



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO NORTE
CENTRO DE TECNOLOGIA (CT)
CENTRO DE CIÊNCIAS EXATAS E DA TERRA (CCET)



PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA E
ENGENHARIA DE MATERIAIS

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

**Obtenção de fitas cerâmicas baseadas em paligorskita/PVA
via *tape casting* como veículo para neomicina**

Anna Karla de Carvalho Freitas

Orientador:

Prof. Dr. Wilson Acchar

Coorientadora:

Prof^a. Dr^a Sibebe Berenice Castellã Pergher

Dissertação n.º _____ /PPGCEM

Julho de 2018

Natal – RN

ANNA KARLA DE CARVALHO FREITAS

**Obtenção de fitas cerâmicas baseadas em paligorskita/PVA
via *tape casting* como veículo para neomicina**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais da Universidade Federal do Rio Grande do Norte, como requisito para obtenção do título de MESTRE EM CIÊNCIA E ENGENHEIRA DE MATERIAIS.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Acchar

Coorientadora: Prof^a. Dr^a Sibele Berenice Castellã Pergher

Julho de 2018

Natal-RN

Universidade Federal do Rio Grande do Norte - UFRN
Sistema de Bibliotecas - SISBI
Catalogação de Publicação na Fonte. UFRN - Biblioteca Central Zila Mamede

Freitas, Anna Karla de Carvalho.

Obtenção de fitas cerâmicas baseadas em paligorskita/PVA via tape casting como veículo para neomicina / Anna Karla de Carvalho Freitas. - 2018.

100 f.: il.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Natal, RN, 2018.

Orientador: Prof. Dr. Wilson Acchar.

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Sibele Berenice Castellã Pergher.

1. Nanocompósitos - Dissertação. 2. Paligorskita - Dissertação. 3. Neomicina - Dissertação. 4. Liberação de fármaco - Dissertação. I. Acchar, Wilson. II. Pergher, Sibele Berenice Castellã. III. Título.

RN/UF/BCZM

CDU 620.3

Dedico este trabalho à minha mãe Ana Lúcia Câmara de Carvalho, a maior incentivadora dos meus estudos, pelo exemplo de caráter e coragem. Por ter se dedicado de forma incondicional a minha formação pessoal e profissional.

"Aqui, no entanto, nós não olhamos para trás por muito tempo, Nós continuamos seguindo em frente, abrindo novas portas e fazendo coisas novas, porque somos curiosos... e a curiosidade continua nos conduzindo por novos caminhos. Siga em frente."

Walt Disney

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Dr. Wilson Acchar e Dr^a Sibeles B. C. Pergher pela orientação neste trabalho, por toda a dedicação, apoio, paciência, confiança, contribuição e oportunidade de um maior aprendizado. Sou extremamente grata por tê-los como meus orientadores.

A minha mãe Ana, por todo seu amor às suas filhas e a sua dedicação para que eu pudesse realizar meus estudos da melhor maneira possível.

A minha irmã Tamyres, que mesmo sem tempo, conseguiu contribuir e me ajudar neste trabalho.

Ao meu namorado Diogo, por toda paciência, amor e incentivo.

Aos pós-doc. Ana Paula e Antonio Carlos que estavam sempre dispostos a me ajudar. Agradeço pela atenção, paciência, incentivo e amizade.

Aos meus amigos do Laboratório de Propriedades Físicas dos Materiais Cerâmicos (LaPFiMC), Micheline, Larissa, Gabriela, Hugo, Luana, Ricardo, Sérgio, João Neto, Paulo, Joana e prof. Vamberto, que de alguma forma contribuíram para este trabalho. Sou grata por todos os momentos vividos com vocês.

A doutoranda Iane, por toda sua colaboração nesta pesquisa e paciência em me ajudar. Assim como, a todos do Labpemol que sempre me receberam tão bem.

Aos profs. César Viseras e Claro Ignácio por terem me recebido tão bem, por todos os ensinamentos e pela oportunidade. Assim como, a todos que tive o prazer de conhecer e que de alguma forma contribuíram nesta pesquisa.

Ao prof. Rogério Cansian e sua aluna de mestrado Bruna, da URI-Erechim, por toda disponibilidade e hospitalidade.

A UFRN pela oportunidade de realização de uma pós-graduação com conceito máximo.

A Capes pela bolsa concedida.

A banca por ter aceitado o convite.

Sou grata a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.

E, acima de tudo Deus.

RESUMO

Diversos são os esforços para o desenvolvimento de nanocompósitos, que apresentem a combinação das redes poliméricas orgânicas e das nanopartículas inorgânicas bioativas para cicatrização de feridas. A paligorskita tem sido muito aplicada em sistemas de liberação de fármaco por apresentar propriedades físico-químicas interessantes. Um princípio ativo indicado para o tratamento de ferimentos abertos é a neomicina, que atua na inibição da síntese proteica de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas. Uma técnica bastante utilizada na produção de filmes finos, planos e elevada área específica é o *tape casting*. Neste trabalho, fitas cerâmicas a base de paligorskita, do fármaco neomicina, de PVA foram obtidas a fim de investigar a liberação controlada de fármaco para administração tópica. A estabilidade da suspensão foi analisada através de ensaios reológicos, e os pós e as fitas cerâmicas foram caracterizados por fluorescência de raios X (FRX), difração de raios X (DRX), análise térmica (ATG/ATD), calorimetria exploratória diferencial (DSC), espectroscopia de absorção na região do infravermelho (FTIR), análise elementar (CHN-S), microscopia eletrônica de varredura (MEV-FEG). Testes de atividade antimicrobiana e concentração bactericida mínima foram realizados a fim de investigar o potencial de inibição do fármaco nas fitas. E, por fim, foram realizados cálculos de mecânica clássica com a finalidade de estimar a energia, para possível cálculo da energia de adsorção. De acordo com os resultados de reologia, foi observado um comportamento pseudoplástico, adequado para a técnica de *tape casting*. Picos de reflexão referentes às fases paligorskita, de estrutura ortorrômbica, e quartzo, de estrutura hexagonal foram encontrados. A análise por DSC identificou picos exotérmicos característicos da neomicina no híbrido Pal-Neo. Resultados de análise elementar mostraram que menos de 3% de neomicina foi incorporada na paligorskita. Os testes de atividade antimicrobiana e concentração bactericida mínima demonstraram que o híbrido Pal-Neo apresentou um efeito inibitório sobre o crescimento das bactérias, provando-se capaz de danificar a membrana citoplasmática das bactérias testadas.

Palavras-chave: nanocompósitos, *tape casting*, paligorskita, neomicina, liberação de fármaco.

ABSTRACT

There are several efforts to develop nanocomposites that present the combination of organic polymer networks and bioactive inorganic nanoparticles for wound healing. Palygorskite has been extensively applied in drug delivery systems because it has interesting physical chemical properties. Neomycin has been considered an active principle indicated for the treatment of open wounds, which acts to inhibit the protein synthesis of Gram-negative and Gram-positive bacteria. Tape casting is a technique widely used in the production of flat thin films with high specific area. In this work, ceramic tapes based on palygorskite, the drug neomycin, and the PVA were obtained in order to investigate the controlled release of drug for topical administration. The stability of the suspension was analyzed by rheological tests, and the powders and ceramic tapes were characterized by X-ray fluorescence (XRF), X-ray diffraction (XRD), thermal analysis (TGA/DTA), differential scanning calorimetry (DSC), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), elemental analysis (CHN-S), scanning electron microscopy (SEM-FEG). Tests of antimicrobial activity and minimum bactericidal concentration were performed in order to investigate the potential for drug inhibition in the sheets. Finally, equations of classical mechanics were carried out in order to estimate the energy, for possible calculation of adsorption energy. According to the rheology results, a pseudoplastic behavior was observed, suitable for the tape casting technique. Reflection peaks related to the palygorskite phases, of orthorhombic structure and quartz, of hexagonal structure were found. DSC analysis identified exothermic peaks characteristic of neomycin in the Pal-Neo hybrid. Elemental analysis results showed that less than 3% of neomycin was incorporated into palygorskite. Tests of antimicrobial activity and minimum bactericidal concentration demonstrated that the Pal-Neo hybrid had an inhibitory effect on the growth of bacteria, proving being capable of damaging the cytoplasmic membrane of the tested bacteria.

Keywords: nanocomposites, tape casting, palygorskite, neomycin, drug delivery system.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 3

Figura 3.1: Comparação das concentrações de fármacos administrados por métodos convencionais de multidosagem (a) e sistema de liberação controlada (b)	24
Figura 3.2: Mecanismos de liberação de fármacos por difusão, intumescimento e erosão.....	26
Figura 3.3: Modelo das estruturas em camada 1:1 e 2:1	31
Figura 3.4: Estrutura cristalina da paligorskita	33
Figura 3.5: Representação esquemática da estrutura do poli (álcool vinílico) (PVA), (a) monômero e (b) polímero	36
Figura 3.6: Estrutura química das substâncias de neomicina.....	38
Figura 3.7: Representação do processo de <i>tape casting</i>	43

Capítulo 4

Figura 4.1: Fluxograma das etapas de preparação da suspensão para obtenção da fita cerâmica.....	47
Figura 4.2: Fluxograma das caracterizações dos pós precursores, Pal, híbrido Pal-Neo e Neo.....	48
Figura 4.3: Fluxograma das caracterizações das fitas cerâmicas, Pal (F) e Pal-Neo (F), obtidas pelo método de <i>tape casting</i>	48

Capítulo 5

Figura 5.1: Viscosidade versus taxa de cisalhamento para a suspensão Pal (F)	56
Figura 5.2: Padrões de Difração de raios X das amostras Pal e Pal-Neo, onde ♣ JCPDS 98-007-7211 e ♦ JCPDS 98-003-5110 representam a paligorskita e o quartzo, respectivamente	60
Figura 5.3: Padrões de Difração de raios X das amostras Pal (F) e Pal-Neo (F) obtidas pelo método de <i>tape casting</i> , onde ♣ JCPDS 98-007-7211 e ♦ JCPDS 98-003-5110 representam a paligorskita e o quartzo, respectivamente.....	61
Figura 5.4: Curvas TG/TDA das amostras (a) Pal, (b) Pal-Neo e (c) Neo, em atmosfera de argônio	62

Figura 5.5: Curvas TG/TDA das fitas cerâmicas obtidas pelo método <i>tape casting</i> (a) Pal (F), (b) Pal-Neo (F), em atmosfera de argônio	64
Figura 5.6: TGA das amostras Pal, Pal-Neo e Neo analisadas em atmosfera de ar	66
Figura 5.7: Análise de TG do híbrido Pal-Neo com apenas uma lavagem.....	67
Figura 5.8: Curvas de DSC para as amostras Pal, Pal-Neo e Neo	68
Figura 5.9: Curvas de DSC para as triplicatas do híbrido Pal-Neo	69
Figura 5.10: Espectros de infravermelho na região de 4000 – 800 cm ⁻¹ correspondente às amostras de (a) Pal, (b) Pal-Neo e (c) Neo	71
Figura 5.11: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) da amostra Pal com aumento de (a) 5 KX, (b) 10 KX e (c) 50 KX	73
Figura 5.12: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) do híbrido Pal-Neo com aumento de (a) 10 KX, (b) 15 KX e (c) 70 KX	74
Figura 5.13: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) do nanocompósito de Pal (F) com aumento de (a) 5 KX, (b) 10 KX e (c) 50 KX	75
Figura 5.14: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) do nanocompósito de Pal-Neo (F) com aumento de (a) 5 KX, (b) 10 KX e (c) 50 KX	76
Figura 5.15: Mapeamento da amostra Pal por EDS com aumento de 4 KX	76
Figura 5.16: Imagens das placas de testes de incubação das fitas cerâmicas para as diferentes bactérias	77
Figura 5.17: Modelagem molecular da paligorskita com as moléculas de águas de hidratação, os átomos de magnésio, silício, alumínio, oxigênio, hidrogênio são descritos em verde, amarelo, rosa, vermelho e branco, respectivamente	80
Figura 5.18: Modelagem molecular da paligorskita com apenas 8 moléculas de água estruturais, os átomos de magnésio, silício, alumínio, oxigênio, hidrogênio são descritos em verde, amarelo, rosa, vermelho e branco, respectivamente	81
Figura 5.19: Modelagem molecular da Neomicina C, os átomos de carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio estão representados pelas cores cinza, branco, azul e vermelho, respectivamente	82
Figura 5.20: Supercélula da paligorskita com diferentes perspectivas	83
Figura 5.21: Adsorção da molécula de neomicina C nos canais da paligorskita	83

Figura 5.22: Interação da molécula de neomicina com a superfície externa (001) da paligorskita.....	84
---	----

LISTA DE TABELAS

Capítulo 3

Tabela 3.1: pH de algumas regiões e fluidos corporais	26
---	----

Capítulo 4

Tabela 4.1: Reagentes empregados para o preparo da fita cerâmica	45
Tabela 4.2: Composição da fita cerâmica	46

Capítulo 5

Tabela 5.1: Composição química da paligorskita	58
Tabela 5.2: Composição química da neomicina	58
Tabela 5.3: Composição química do híbrido paligorskita-neomicina	59
Tabela 5.4: Dados percentuais da decomposição térmica dos pós precursores e das fitas cerâmicas obtidas via <i>tape casting</i>	65
Tabela 5.5: Resultado da análise elementar para as amostras Pal-Neo, Pal-Neo (F)	71
Tabela 5.6: Resultado da análise elementar para as triplicatas do híbrido Pal-Neo	72
Tabela 5.7: Medidas do halo de inibição para a fita cerâmica Pal-Neo, medida pelo método de difusão de placas sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.....	78
Tabela 5.8: Análise de CBM para as amostras Pal-Neo.....	79

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

ATCC - *American Type Culture Collection* - USA

ATD – Análise Térmica Diferencial

ATG – Análise Termogravimétrica

CBM – Concentração Bactericida Mínima

CHN-S – Carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre

CIPEA - *Comité International pour l'Étude des Argiles*

CME – Concentração Mínima Eficaz

CMT – Concentração Mínima Tóxica

DDS – *Drug Delivery System*

DRX - Difração de raios X

DSC – Calorimetria Exploratória Diferencial

FTIR – Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier

JCPDS - *Joint Committee on Powder Diffraction Standards*

MC – Metilcelulose

MEV-FEG - Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo

Neo - Neomicina

Pal – Paligorskita

PVA – Poli (álcool vinílico)

TTSs – Sistemas Terapêuticos Transdérmicos

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 OBJETIVOS.....	20
2.1 Objetivo Geral	20
2.1.1 Objetivo Específico	20
3 REFERENCIAL TEÓRICO	22
3.1 Sistemas de Liberação Controlada	22
3.1.1 Sistema Terapêutico Transdérmico	27
3.2 Nanocompósitos	28
3.3 Argilas	29
3.3.1 Argilas aplicadas a <i>drug delivery</i>	31
3.3.2 Paligorskita	32
3.4 Polímeros Biodegradáveis	35
3.4.1 Poli (álcool vinílico)	35
3.5 Antibióticos.....	37
3.5.1 Neomicina	37
3.6 Processo de <i>Tape Casting</i>	38
4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL	45
4.1 Reagentes.....	45
4.2 Preparação do híbrido paligorskita-neomicina.....	45
4.3 Preparo das suspensões.....	46
4.4 Obtenção das fitas cerâmicas via <i>Tape casting</i>	47
4.5 Caracterização composicional, morfológica e estrutural	49
4.5.1 Ensaio Reológico	49
4.5.2 Fluorescência de Raios X	49
4.5.3 Difração de Raios X	49
4.5.4 Técnicas Termoanalíticas	50
4.5.4.1 Análise Termogravimétrica e Análise Térmica Diferencial (ATG/ATD)	50
4.5.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	50

4.5.5 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	51
4.5.6 Análise Elementar (CHN-S).....	51
4.5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-FEG)	51
4.5.8 Atividade Antimicrobiana	52
4.5.9 Concentração Bactericida Mínima (CBM).....	52
4.5.10 Modelagem Molecular	53
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	55
5.1 Ensaio Reológico	56
5.2 Fluorescência de Raios X	57
5.3 Difração de Raios X	59
5.4 Técnicas Termoanalíticas	61
5.4.1 Análise Termogravimétrica e Análise Térmica Diferencial (ATG/ATD)	61
5.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)	68
5.5 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR).....	69
5.6 Análise Elementar (CHN-S)	71
5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-FEG)	72
5.8 Atividade Antimicrobiana.....	77
5.9 Concentração Bactericida Mínima (CBM).....	79
5.10 Modelagem Molecular	80
6 CONCLUSÕES	86
REFERÊNCIAS	86

Capítulo 1

Introdução

1 INTRODUÇÃO

A engenharia de tecidos tem avançado significativamente no campo da cicatrização de feridas na pele. Recentemente, ela tem encontrado ampla aplicação para substitutos da pele, especialmente no caso de queimaduras (PRIYA, 2008). O princípio desta engenharia é desenvolver substitutos biocompatíveis e bioreabsorvíveis que aceleram o fechamento da ferida e restauram a funcionalidade dos tecidos cicatrizados (METCALFE e FERGUSON, 2007; BERTHET et al. 2017).

Os nanocompósitos são uma nova classe de polímeros preenchidos com partículas, a carga inorgânica está baseada em materiais como argilas, nanopartículas de sílica, vidro bioativo, óxidos metálicos (ouro, prata, óxido de ferro), entre outros. Os nanocompósitos projetados com múltiplos componentes orgânicos/inorgânicos e estruturas porosas apropriadas podem satisfazer as necessidades crescentes de um suporte adequado para aplicações de cicatrização de feridas. Polímeros naturais e sintéticos são usados para a fabricação de membranas na engenharia de tecido (WANG, CHANG e WU, 2018).

Devido às propriedades químicas, mecânicas e estruturais controláveis, os polímeros sintéticos foram extensivamente investigados, incluindo poli (ácido glicólico) (PGA), poli (ácido láctico) (PLA), poli (álcool vinílico) (PVA), entre outros. O poli (álcool vinílico) é comumente utilizado em dispositivos biomédicos, devido às suas excelentes propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade. Este polímero demonstrou um elevado potencial em aplicações biomédicas, devido a sua natureza elástica, não toxicidade, não-carcinogenicidade e rápida aceitação por parte do corpo (CHANG *et al.* 2000).

Entretanto, os polímeros sintéticos apresentam diversos desafios que incluem fraca biocompatibilidade e capacidade limitada para facilitar a cicatrização de ferida, assim como, produtos de degradação tóxica e perda de propriedades mecânicas durante a degradação. Diante disso, diversos são os componentes inorgânicos que podem ser incorporados na rede polimérica para fornecer as características mecânicas e bioativas desejadas para acelerar o processo de cicatrização de feridas (NINAN *et al.* 2015).

A argila é uma rocha constituída basicamente por um grupo de minerais que são chamados de argilominerais. Estes são silicatos de alumínio, ferro e magnésio hidratados, com estruturas cristalinas em camadas (filossilicatos), constituídos por

folhas contínuas de tetraedros $[\text{SiO}_4]$. Alguns argilominerais podem conter uma fração com dimensões na faixa de 1 a 100 nm (COELHO, SANTOS e SANTOS, 2007).

A paligorskita, também conhecida por atapulgita, é um alumino silicato fibroso, que apresenta em sua estrutura canais estruturais que se prolongam por todo comprimento da fibra. Sua morfologia fibrosa e a presença de canais conferem a essa argila alta área específica (OLIVEIRA *et al.* 2010). Suas principais aplicações são em adesivos, tintas e revestimentos, papel, produtos farmacêuticos, polidores, reforço de enchimento, entre outras (COGO, 2011).

Com base nisso, esta argila é amplamente aplicada como excipiente farmacêutico, tanto para a administração oral como tópica. O antibiótico neomicina é um aminoglicosídeo eficaz contra um amplo espectro de bactérias Gram-negativas e Gram-positivas, sendo bastante usado em medicamentos como pomadas, cremes, colírio, entre outros (BORREGO-SÁNCHEZ *et al.* 2018).

Os excipientes são substâncias utilizadas para assegurar a estabilidade, a eficácia e as propriedades físico-químicas e farmacológicas dos produtos farmacêuticos. Estes podem ser quimicamente heterogêneos, podendo ser moléculas muito simples ou misturas de complexos naturais ou sintéticos. Entre os excipientes nos sistemas de liberação destacam-se os lipídios, polímeros e materiais inorgânicos (BORIN, 2012).

A junção entre a ciência dos materiais e a ciência farmacêutica levou a avanços em termos de inovação, *design* e desenvolvimento de novos sistemas de liberação de fármacos. Dentre os sistemas de liberação, os terapêuticos transdérmico vem sendo utilizados. A liberação de fármacos através da pele tem sido um conceito promissor, por causa do fácil acesso, extensa área da pele, vasta exposição ao sistema circulatório e linfático e natureza não invasiva do tratamento (SILVA, 2016).

Os sistemas convencionais de administração de fármacos (comprimidos, cápsulas, spray) apresentam inúmeras vantagens, como um tempo mais prolongado de liberação, mantendo dessa forma a concentração plasmática na faixa terapêutica, redução do número de doses administradas, além de serem mais convenientes para os pacientes, em relação ao conforto e adesão ao tratamento (LYRA *et al.* 2007).

Atualmente, técnicas inovadoras têm sido utilizadas no desenvolvimento de filmes preparados a partir da combinação de sólido inorgânico com

compostos orgânico (RUIZ-HITZKY *et al.* 2013). Entre as diversas estratégias de produção de filmes para materiais nanocompósitos destacam-se os métodos de spin-coating, dip-coating, drop-casting, tape casting, entre outros.

No processo de *tape casting* é possível à produção de fitas cerâmicas a partir de uma suspensão que contém componentes cerâmicos, solventes e aditivos orgânicos, como dispersante, ligante, plastificante. Esses aditivos garantem que após a secagem a fita cerâmica irá apresentar flexibilidade e coesão (MINATTO *et al.* 2015). O uso do método de *tape casting* para o desenvolvimento de biomateriais permite um controle da porosidade, do tamanho e da forma dos poros (TANIMOTO *et al.* 2012).

Diante disso, essa dissertação tem por finalidade a preparação e a caracterização de nanocompósitos a base de um material híbrido composto por paligorskita, neomicina, e o PVA, através do método de *tape casting* aquoso, atuando na cicatrização de feridas por liberação controlada de fármacos.

Capítulo 2

Objetivos

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

O presente trabalho tem como objetivo o desenvolvimento de fitas cerâmicas obtidas pelo método de *tape casting* aquoso, à base de paligorskita, do fármaco, neomicina, e o PVA, de forma que sejam utilizadas para o processo de cicatrização de feridas, através da liberação controlada de neomicina por administração tópica.

2.1.1 Objetivos Específicos

- Avaliar o comportamento através das caracterizações realizadas na suspensão, no pó cerâmico e nas fitas cerâmicas;
- Analisar a microestrutura do pó cerâmico e das fitas cerâmicas produzidas através de microscopia eletrônica de varredura e difração de raios X;
- Avaliar a liberação do fármaco neomicina através das análises de atividade antimicrobiana e concentração bactericida mínima.
- Estudar a interação da paligorskita com a neomicina através do método de modelagem molecular.

Capítulo 3
Referencial Teórico

3 REFERENCIAL TEÓRICO

3.1 Sistemas de Liberação Controlada

Os medicamentos que proporcionam uma liberação prolongada ou sustentada apareceram no final da década de 1940 e no início da década de 1950 como a principal nova classe de formas farmacêuticas. Desde então, diferentes expressões tem sido usadas pelos fabricantes para descrever os tipos e as características dos produtos, tais como liberação sustentada (*sustained release* - SR), ação sustentada (*sustained action* - SA), ação prolongada (*prolonged action* - PA), liberação controlada (*controlled release* - CR), liberação prolongada (*prolonged release* - ER) e ação longa (*long action* - LA) (LYRA *et al.*, 2007).

Segundo Loyd *et al.* (2007) alguns fármacos são inerentemente de longa ação, exigindo apenas a administração de uma dose diária para manter os níveis plasmáticos adequados e o efeito terapêutico necessário. Esses medicamentos são formulados de maneira convencional em formas farmacêuticas de liberação imediata. Entretanto, muitos outros fármacos não apresentam ação duradoura e requerem a administração de múltiplas doses diárias para a obtenção dos resultados terapêuticos desejados. Diante disso, a administração de várias doses é inadequada ao paciente e pode resultar em esquecimento, adaptação da dose e não adesão ao tratamento.

O conceito de sistema de liberação de fármaco está relacionado às propriedades físico-químicas e farmacocinéticas dos fármacos. As formas de dosagem da liberação convencional são conhecidas por fornecer uma liberação imediata do medicamento, com pouco ou nenhum controle sobre a taxa de liberação. Porém, quando a administração das doses não é rigorosamente seguida, os picos e vales de concentração resultante ficam abaixo dos valores terapêuticos ideais. Por exemplo, caso as doses sejam administradas com frequência, a concentração mínima tóxica (CMT) do fármaco pode ser alcançada, resultando no aparecimento de efeitos colaterais. Se as doses forem puladas, períodos de níveis sanguíneos subterapêuticos do fármaco, ou seja, abaixo da concentração mínima eficaz (CME), podem ocorrer sem benefícios ao paciente (Rodrigues *et al.* 2013).

Entretanto, no sistema de liberação controlada de fármacos (*drug delivery system*, DDS) acontece a liberação do fármaco de forma gradativa, ou seja, a

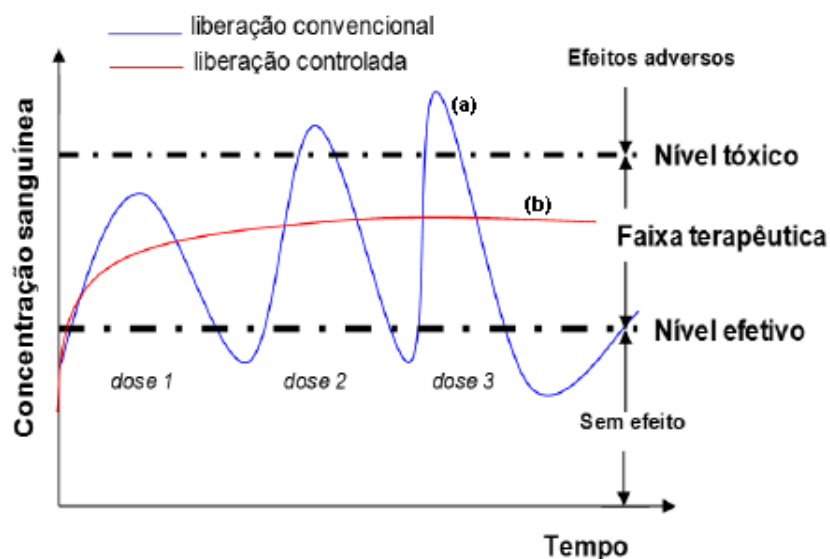
dosagem farmacêutica deve ser projetada para fornecer níveis terapêuticos de fármaco para o local de ação, assim como, mantê-los ao longo de todo tratamento. Isto é alcançado modificando a taxa e/ou o tempo e/ou o local de liberação do medicamento em comparação com as formulações convencionais. Consequentemente, essa modificação na liberação das substâncias ativas é fornecida para que haja a redução dos efeitos tóxicos ou para algum propósito terapêutico (AGUZZI *et al.* 2007).

Quando comparado o sistema de liberação controlada e os sistemas convencionais, é possível observar inúmeras vantagens, destacando-se (KUSHAL *et al.*, 2013; REBITSKI, 2015):

- i) Efeitos indesejados reduzidos, devido ao controle durante a liberação do fármaco;
- ii) Diminuição significativa da toxicidade e maior tempo de permanência na circulação;
- iii) Maior comodidade pela diminuição do número de administrações diárias;
- iv) Redução da toxicidade devido à liberação lenta, de forma a manter o fármaco por mais tempo na circulação sanguínea, evitando assim várias dosagens;
- v) A liberação contínua e controlada do fármaco dar se através da degradação da matriz, que consiste na adição de um excipiente biodegradável e biocompatível.

Devido o sistema de liberação controlada apresentar uma liberação do fármaco de forma prolongada requer administrações menos frequentes do medicamento em relação à forma convencional, nas quais a concentração do fármaco apresenta um aumento na corrente sanguínea, atinge um pico máximo e então declina, como apresentado na Figura 3.1. Desde que cada fármaco possua uma faixa de ação terapêutica acima da qual ele é tóxico e abaixo da qual ele é ineficaz, os níveis plasmáticos são dependentes das dosagens administradas, isso se torna mais crítico se a dose efetiva estiver próxima à dose tóxica (LYRA *et al.* 2007).

Figura 3.1: Comparação das concentrações de fármacos administrados por métodos convencionais de multidosagem (a) e sistema de liberação controlada (b).



Fonte: REBITSKI, 2015.

Portanto, em geral, um dos principais objetivos dos sistemas de liberação controlada é, após a administração do medicamento com uma única dose, liberar o fármaco controladamente mantendo a concentração sanguínea constante, entre a concentração mínima eficaz (CME) e a concentração tóxica (CMT), na faixa terapêutica por um longo período de tempo, de forma a obter um perfil de liberação que minimize os efeitos tóxicos, promovendo um efeito terapêutico do medicamento, por meio do alcance de quantidades adequadas e permanência no sítio desejado (SILVA, 2016).

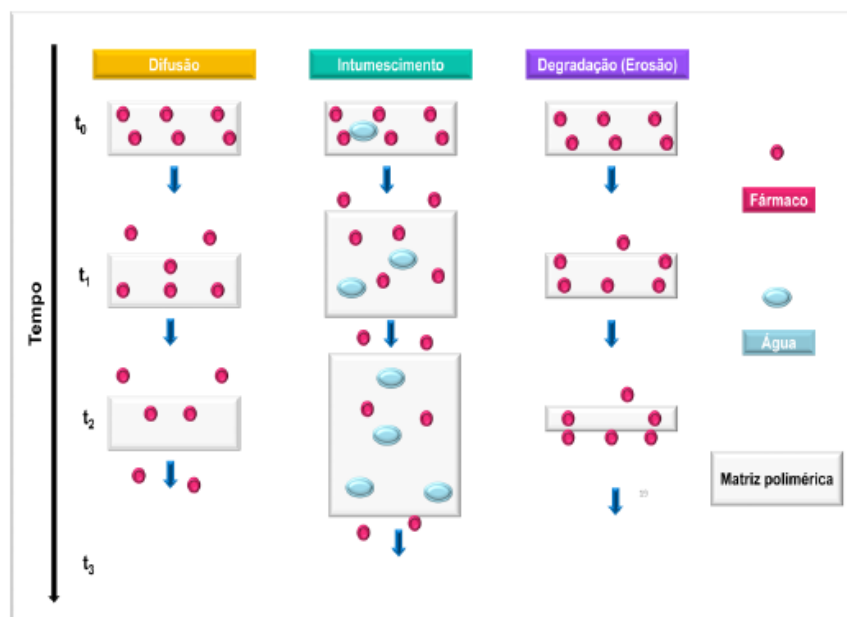
As formulações de liberação controlada utilizam uma barreira física ou química para proporcionar uma liberação lenta da dose de manutenção. Diversas são as técnicas que são utilizadas para formar essa barreira nas formas farmacêuticas sólidas, incluindo a utilização de revestimentos poliméricos, sólidos inorgânicos de distintas natureza, lipossomas, ou até mesmo mediante a formação de materiais híbridos do tipo bionanocompósito, onde se incluem a combinação de ambas as fases orgânica e inorgânica. Os agentes ideais para a melhoria no desenvolvimento de sistemas de liberação controlada devem garantir que o fármaco seja liberado no sítio certo, na dose certa e no tempo requerido (LYRA *et al.* 2007; REBITSKI, 2015).

Como as características dos materiais requeridos não são encontradas nos materiais convencionais, as recentes tecnologias requerem materiais com combinações de propriedades, como os materiais híbridos orgânicos-inorgânicos, que constituem uma alternativa para a produção de materiais multifuncionais, com larga faixa de aplicação. Sendo estes híbridos materiais de grande interesse, devido às suas propriedades mecânicas, ópticas e térmicas, que combinam a estabilidade térmica e química dos materiais cerâmicos, com a processabilidade e a flexibilidade dos compostos e polímeros orgânicos (NETO, 2014).

Os sistemas de liberação controlados a partir de materiais poliméricos podem ser classificados de acordo com o mesmo mecanismo que governa a liberação de fármacos: (i) sistemas de liberação controlados por difusão; (ii) sistemas de liberação ativados pelo solvente e (iii) sistemas de liberação controlados por ação química. Nos sistemas matriciais, o fármaco pode estar homogeneamente disperso na matriz polimérica e na sua liberação estão envolvidos processos físicos e químicos, incluindo penetração do líquido na matriz, difusão do fármaco pelos poros da matriz, erosão do polímero ou uma combinação dos mecanismos (SILVA *et al.* 2016; COELHO, 2007; CARBINATTO, 2010), que estão apresentados na Figura 3.2.

Na difusão a matéria é transportada de um local para outro situado no interior do próprio sistema e resulta de um conjunto de movimentos moleculares aleatórios que ocorrem em pequenas distâncias. O intumescimento é descrito como o aumento de volume do polímero quando está imerso em determinado solvente. Por último, a degradação/erosão, onde o polímero se desgasta à medida que suas cadeias são fragmentadas devido a reações químicas, liberando o fármaco para o meio (SILVA, 2016; COELHO, 2007).

Figura 3.2: Mecanismos de liberação de fármacos por difusão, intumescimento e erosão.



Fonte: SILVA, 2016.

O pH do meio exerce influência na solubilidade das substâncias, na estabilidade química, na compatibilidade fisiológica com os tecidos orgânicos onde a forma farmacêutica será aplicada de forma a minimizar a irritação e o desconforto da aplicação (Tabela 3.1) e, por fim, na garantia do efeito terapêutico esperado para o medicamento. Então, o ajuste do pH de uma formulação é importante na aplicação do produto, na compatibilidade fisiológica desta com o pH dos tecidos (NETO, 2014).

Tabela 3.1: pH de algumas regiões e fluidos corporais.

Região do Corpo	pH	Fluidos ou secreções	pH
Pele	~5,5	Líquido retal	7,2 – 7,4
Rosto	4,7 – 5,5	Lágrima	~7,4
Axila	6,1 – 6,8	Secreção nasal adulto	5,5 – 6,5
Cabelo	~5,0	Secreção nasal crianças	5,0 – 6,7
Saco Conjuntival	7,3 – 7,8	Suco gástrico	1,0 – 3,0
Conduto auditivo	6,0 – 7,8	Saliva	6,9
Vaginal	4,0 – 4,5	Sangue	7,4

Fonte: NETO, 2014.

3.1.1 Sistema Terapêutico Transdérmico

A pele é o órgão mais acessível do corpo humano e atua como uma barreira contra micro e macromoléculas do meio ambiente devido à baixa permeabilidade dessas substâncias. A pele de um corpo adulto tem em média, aproximadamente, 2m² de área e recebe cerca de um terço do sangue total que circula por todo o corpo. A absorção percutânea do fármaco ocorre através do estrato córneo (a camada mais externa) (KATHE e KATHPALIA, 2017).

A absorção percutânea de um fármaco em geral resulta da penetração direta através do estrato córneo, que é uma camada de tecido morto de 10 a 15 µm de espessura. O estrato córneo é composto de aproximadamente 40% de proteína (principalmente queratina) e de água, com caráter lipídico, pela presença de triglicerídeos, ácidos graxos livres, colesterol e fosfolipídios. A principal via de administração de fármacos é através dos canais intercelulares, portanto, o componente lipídico é considerado determinante na primeira parte da absorção. Uma vez ultrapassado o estrato córneo, a molécula pode permear até a epiderme profunda e chegar à derme, que é o tecido vascularizado, tornando-se disponível para ser absorvida pela circulação geral (LOYD *et al.* 2007).

O objetivo da administração de medicamentos através da pele é o tratamento tópico de doenças de pele ou a absorção de fármacos na circulação sistêmica. A via tópica oferece uma grande e variada superfície, além de facilidade de auto-administração. A utilização de aplicação transdérmica oferece diversas vantagens, quando comparada com a administração de fármacos por via oral ou parentérica, e algumas delas são (RAFEIRO, 2013):

- i) Evita dificuldades relacionadas ao pH gastrointestinal, atividade enzimática e interação do fármaco com alimentos, bebidas e outros fármacos administrados oralmente;
- ii) Substitui a administração oral quando esta via é inadequada, como nos casos de vômitos e diarreia;
- iii) O tratamento pode ser interrompido de modo rápido por meio da remoção do sistema aplicado sobre a superfície da pele;

iv) Proporciona uma terapia prolongada com aplicação única, o que resulta em maior adesão, comparados com outras formas farmacêuticas que requerem uma administração mais frequente;

v) Aumenta a atividade de fármacos com tempo de semi-vida curto, devido ao reservatório do sistema e às suas características de liberação controlada.

Os sistemas terapêuticos transdérmicos (TTSs), também chamados de *patches*, que facilitam a passagem de quantidades terapêuticas de fármacos através da pele e suas diversas camadas até atingir a circulação sanguínea (PRAÇA, 2010). Alguns exemplos já desenvolvidos e comercializados são os TTSs de nicotina, que são utilizados nos programas de abandono ao tabagismo, o sistema transdérmico Ortho Evra, que é um adesivo contraceptivo, entre outros (LOYD *et al.* 2007).

Os sistemas transdérmicos são constituídos de diferentes polímeros que originam membranas conformáveis. O fármaco e os excipientes devem ser compatíveis e produzir um produto estável, eficaz, atrativo, seguro e de fácil administração. Este pode ser encontrado na forma matricial, onde os fármacos estão dispersos na matriz polimérica (SILVA, 2016).

Devido aos benefícios deste sistema estudos tem sido realizados e intensificados, a fim de desenvolver e fabricar novos medicamentos que possam superar aspectos relacionados às características farmacodinâmicas e farmacocinéticas de outras drogas quando utilizadas por outras vias de administração (MALAQUIAS, 2014).

3.2 Nanocompósitos

Um material compósito exhibe além das propriedades inerentes de cada constituinte, propriedades intermediárias decorrentes da formação de uma região interfacial. O compósito se divide em duas fases, sendo uma matriz, podendo ser cerâmica, polimérica ou metálica, e a fase dispersa, que pode ser fibras ou partículas que servem como carga.

Os nanocompósitos são aqueles compostos que apresentam ao menos uma de suas fases na faixa dos nanômetros (10^{-9} m) e podem ser caracterizados em três diferentes classes, com base na sua matriz, (i) nanocompósito de matriz polimérica, (ii) nanocompósito de matriz metálica e (iii) nanocompósito de matriz cerâmica (ZAFAR *et al.* 2016). Os nanocompósitos de base polimérica apresentam melhorias

consideráveis em suas propriedades mecânicas, óticas, térmicas e acústicas, quando comparadas aos polímeros orgânicos puros (RAFIEE e KESHAVARZ, 2015).

Assim, é possível associar os altos módulos de elasticidade e resistência mecânica dos materiais cerâmicos; com a tenacidade, baixa densidade e facilidade de processamento que vários polímeros propiciam na fabricação de materiais com propriedades especiais não existentes nos materiais de origem (MARANGON, 2008).

Os nanocompósitos de argila-polímero apresentam melhorias nas propriedades mecânicas e reológicas, de forma a reduzir a absorção de água (YANG *et al.* 2016). Devido à característica de biocompatibilidade de alguns polímeros, é possível a sua utilização como biomaterial apresentando, assim, a capacidade de ser empregado no corpo humano gerando bons resultados sem causar efeitos indesejados. Sendo, então, utilizados progressivamente em aplicações biomédicas como nos sistemas de entrega de fármacos, vacinação, curativos e engenharia de tecido (ZAFAR *et al.* 2016).

Estudos recentes revelam que o uso de argilominerais fibrosos, como a sepiolita e a paligorskita resultam em um reforço interessante para polímeros, bem como em matrizes de polímeros no desenvolvimento de nanocompósitos de polímeros e argilas (ALCÂNTARA *et al.* 2014).

Portanto, a geração de novos materiais está relacionada à combinação das fases orgânicas e inorgânicas, onde suas características agregam muitas vezes um valor que não era dado aos materiais individuais, conferindo-lhes novas propriedades mecânicas, estabilidade térmica, resistência ao meio aquoso e propriedades funcionais (REBITSKI, 2015).

3.3 Argilas

As argilas são definidas como matérias naturais, de granulação fina, que ao ser misturado com água em quantidade adequada adquire certa plasticidade (GOMES, 1986). Quimicamente, são formadas essencialmente por silicatos hidratados de alumínio, ferro e magnésio e possuem átomos firmemente ligados

entre si em duas direções no espaço formando lamelas, e átomos fracamente ligados em direção perpendicular a estas lamelas (OLIVEIRA, 2011).

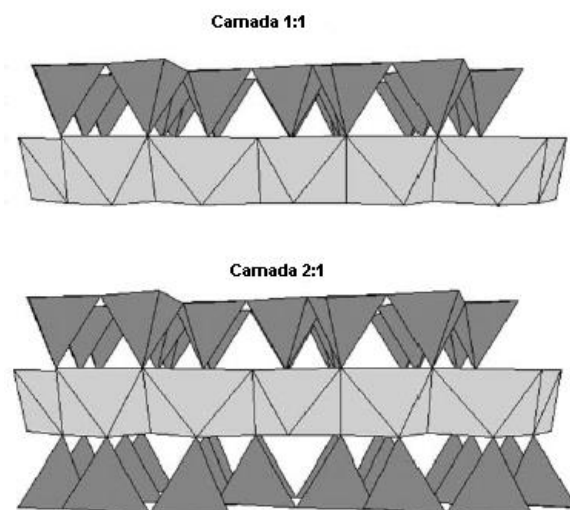
Sabe-se que as argilas são constituídas basicamente por partículas cristalinas extremamente pequenas de um número restrito de minerais conhecidos como “argilominerais”. A sua composição pode ser dada por partículas de um argilomineral ou por uma mistura de diversos argilominerais. As argilas contém baixa granulometria, sendo inferior a 2 μm (SANTOS, 1989).

Os argilominerais são silicatos constituídos por Al, Fe e Mg hidratados, com estruturas cristalinas em camadas ou de estruturas fibrosas, constituídos por folhas, planos ou camadas contínuas de tetraedros SiO_4 , sendo ordenados de forma hexagonal, condensados em folhas octaédricas de hidróxidos de metais trivalentes e divalentes. Esses argilominerais são muitas vezes chamados de “silicatos em camadas” (*layer silicates*) e filossilicatos. Alguns ainda podem conter uma fração com dimensões na faixa entre 1 a 100 nm (DOMINGOS, 2012).

O *Comité International pour l'Étude des Argiles* (CIPEA) recomenda uma subdivisão para os argilominerais em duas classes gerais: (a) silicatos cristalinos com estrutura em camadas ou lamelas, também chamados silicatos em folha (*sheet silicates*) ou filossilicatos; e (b) silicatos cristalinos com estrutura fibrosa (*chain structure*) (MACKENZIE, 1959). Os silicatos de estrutura fibrosa são constituídos por apenas dois argilominerais: sepiolita e paligorskita, sendo este último também chamado atapulgita.

Os silicatos de estrutura lamelar podem ser divididos em duas classes: (a) camadas 1:1 e (b) 2:1, sendo mostradas na Figura 3.3. A nomenclatura 1:1 e 2:1 se prende ao número de camadas de tetraedros $[\text{SiO}_4]$ e de octaedros de hidróxidos, respectivamente, que entram na constituição da célula unitária da estrutura cristalina do argilomineral. Em vista disso, a camada 1:1 é formada pelo empilhamento de uma folha tetraédrica com uma folha octaédrica e os empilhamentos de duas folhas tetraédricas com uma folha octaédrica formam uma camada 2:1 (DOMINGOS, 2012).

Figura 3.3: Modelo das estruturas em camada 1:1 e 2:1.



Fonte: BRIGATTI, GALAN e THENG (2006), adaptado pelo autor.

As argilas com estruturas 1:1 são formadas pelos grupos da caulinita, dos argilominerais ferríferos e das serpentinas. Já a camada 2:1 é composta pelos grupos das micas, das esmectitas, do talco-pirofilita, das vermiculitas, das cloritas e da paligorskita (atapulgita) - sepiolita (COELHO, SANTOS E SANTOS, 2007).

3.3.1 Argilas aplicadas a *drug delivery*

Através da administração controlada do fármaco é possível evitar superdosagem ou subdosagem durante o período de tratamento, permitindo a liberação a níveis constantes dos agentes farmacêuticos ativos dentro da dose terapêutica. As argilas desempenham um importante papel no campo de produtos de saúde (RUIZ-HITZKY *et al.* 2013; VISERAS *et al.* 2010).

O uso de argilominerais para aplicações específicas dependem do tipo de estrutura e de sua composição química. Estes apresentam uma estrutura cristalina formada por camadas que resultam em uma alta área específica e excelentes propriedades reológicas (SANDRI *et al.* 2016).

As argilas são ingredientes comuns em produtos farmacêuticos tanto como excipientes, quanto como substâncias ativas. A utilização de argilas foi observada na década de 60, quando foi constatada que a absorção oral de vários fármacos foi reduzida com a administração de adsorventes intestinais a base de argila ou pela

presença de estabilizadores de argilas (por exemplo, agentes de suspensão ou emulsionantes) em formulações líquidas (AGUZZI *et al.* 2007).

As vantagens em se utilizar argilas em veículos de produtos farmacêuticos são as mais variadas, como biocompatibilidade inerente, baixa citotoxicidade e precisão das propriedades superficiais, de forma a diferenciá-los de outros sistemas de distribuição. Algumas argilas de uso farmacêutico como esmectita (bentonitas, saponitas), caulinitas ou argilas fibrosas (sepiolita, paligorskita) são utilizadas devido as suas propriedades reológicas, permitindo que atuem como emulsionantes e estabilizantes de formulações farmacêuticas, assim como, agentes de suspensão para drogas hidrofóbicas. Entretanto, apresenta, também, o efeito de liberar de forma retardada os produtos farmacêuticos adsorvidos na superfície, ajudando a modular o perfil de liberação de drogas (RUIZ-HITZKY *et al.* 2013).

As esmectitas, especialmente a montmorilonita, e a saponita, foram as argilas mais estudadas devido a sua maior capacidade de troca catiônica, quando comparado a outros silicatos farmacêuticos, como talco, caulim e minerais de argila fibrosos. Já as argilas fibrosas, como paligorskita e sepiolita, foram estudadas por apresentarem grande área específica, sendo de importante aplicação em liberação controlada de fármacos (AGUZZI *et al.* 2007).

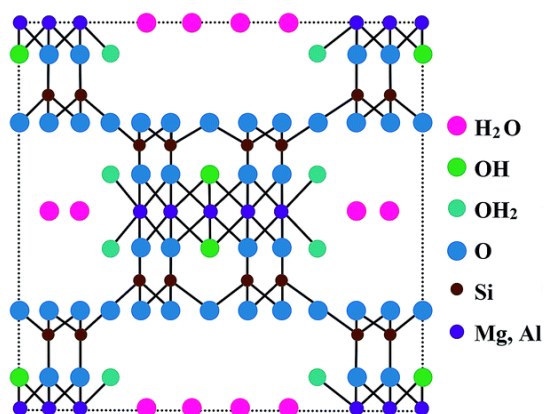
3.3.2 Paligorskita

A paligorskita é um argilomineral fibroso que apresenta diversas aplicações industriais, sendo considerada adequada para a utilização em veículos de moléculas bioativas, devido a sua grande área específica (CARAZO, 2018). São classificados como argilas especiais por serem encontradas em áreas restritas. De todas as argilas especiais, a paligorskita é a argila de maior produção, sendo os Estados Unidos o maior produtor e o restante proveniente do Senegal, da Espanha, Austrália e África do Sul (COELHO, SANTOS e SANTOS, 2007).

A paligorskita é um filossilicato 2:1 que apresenta uma estrutura cristalina fibrosa, no entanto se difere de outros silicatos devido à ausência de folhas octaédricas contínuas (GARCIA-RIVAS *et al.*, 2017; BRIGATTI, GALAN e THENG, 2006; OLIVEIRA, 2011). Ou seja, a estrutura é constituída por camadas em forma de fitas com duas camadas tetraédricas de silicato $[\text{SiO}_4]$ e $[\text{Al}(\text{OH})_3]$ ligadas por uma camada octaédrica de $[\text{Mg}(\text{OH})_2]$ central por meio de oxigênios comuns. Isto é, os

oxigênios do ápice das folhas tetraédricas que apontam alternadamente para cima e para baixo, estão conectados, o que resulta em uma estrutura porosa, cujos canais contêm cátions trocáveis e moléculas de água (SILVA et al., 2013). A Figura 3.4 apresenta a estrutura da paligorskita.

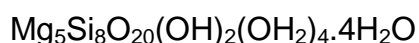
Figura 3.4: Estrutura cristalina da paligorskita.



Fonte: Adaptado de Li *et al.*, 2016.

Dentro dos canais da paligorskita são encontrados três tipos de moléculas de água, (i) molécula de águas coordenadas, que estão ligadas ao cátion $[\text{Mg}^{2+}]$ nas bordas da camada octaédrica, que são perdidas a uma temperatura acima de 375°C , (ii) moléculas de água zeolítica, que preenchem os canais na qual é perdida abaixo de 250°C e (iii) água estrutural (grupo hidroxila) perdida a partir de 550°C a 800°C , onde a estrutura é completamente destruída (RUIZ-HITZKY *et al.*, 2013; GALAN, 1996).

A fórmula da célula unitária da paligorskita é:



Entretanto, a composição real da paligorskita varia devido à substituição parcial do cátion $[\text{Mg}^{2+}]$ por $[\text{Al}^{3+}]$ e $[\text{Fe}^{3+}]$. Essa substituição de íons magnésio resulta em um excesso de cargas negativas, o que torna a paligorskita um adsorvente para algumas moléculas polares (COSTA, 2011). Em sua estrutura cristalina, cada unidade do cristal contém oito moléculas de água, sendo quatro moléculas ligadas ao íon magnésio como águas coordenadas, e as outras quatro são muitas vezes chamadas de água zeolítica (LIU *et al.*, 2012; DOMINGOS, 2012).

A paligorskita apresenta uma morfologia semelhante à sepiolita, porém difere em relação ao maior teor de íons alumínio que substitui os íons magnésio nas

camadas octaédricas. Além disso, as dimensões da seção transversal são de $1,06 \times 0,37 \text{ nm}^2$ enquanto que na paligorskita são de $0,64 \times 0,37 \text{ nm}^2$, permitindo o acesso apenas de moléculas de pequeno tamanho (RUIZ-HITZKY *et al.*, 2013).

Devido sua estrutura cristalina ter muito em comum com a de outros argilominerais 2:1, esta possui canais semelhantes às zeólitas, que apresentam cavidades interconectadas. As camadas componentes de sua estrutura estão ligadas entre si pelas arestas longitudinais, acarretando na formação dos canais, que contém cátions trocáveis e moléculas de água, o que confere a paligorskita alta área específica. O processo de desidratação ocorre a baixas temperaturas, ou seja, ao liberar a água dos canais a paligorskita apresenta excelentes propriedades adsorventes (OLIVEIRA, 2011).

O tamanho das partículas, a forma, a área específica, composição química e carga são importantes propriedades físicas que designam a aplicação da paligorskita. As propriedades que se relacionam às suas aplicações são: a camada de estrutura 2:1 invertida; substituição octaédrica dos cátions (Mg^{2+} , Fe^{2+} , Al^{3+}); carga moderada sobre as camadas, densidade específica; alta área específica e alta área de adsorção (COGO, 2011).

A paligorskita apresenta propriedades físico-químicas que lhe confere aplicações em diversos usos, tais como: refino e processamento químico de derivados de petróleo, cargas para produtos, como: tinta, fármacos, adesivos, cama de animais domésticos (*pet litter*), purificador de águas domésticas, princípio ativo de fármacos e cosméticos (COSTA, 2011).

As propriedades superficiais da paligorskita são responsáveis pela interação com diferentes compostos, como polímeros, formando materiais nanoestruturados e nanocompósitos com diversas aplicações industriais. Além disso, é comum o uso em grau farmacêutico, estando relacionado às suas propriedades reológicas, permitindo seu uso como estabilizadores de formulações farmacêuticas. Outra importante função é a de liberação retardada de produtos farmacêuticos, ajudando a modular o perfil de liberação dos fármacos (RUIZ-HITZKY *et al.* 2013).

3.4 Polímeros Biodegradáveis

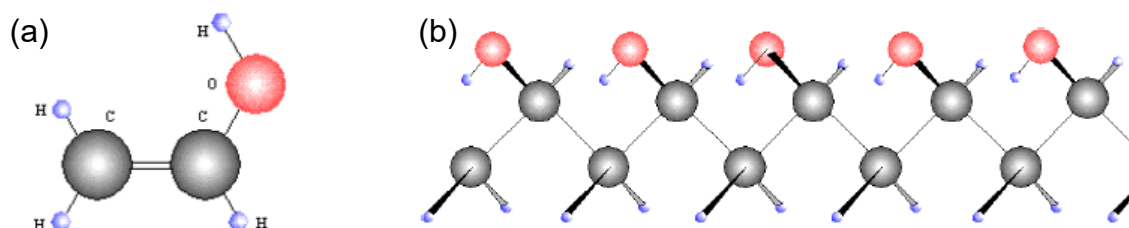
Os materiais biodegradáveis são aqueles que podem ser degradados no meio ambiente por ação de bactérias e enzimas por um curto período de tempo (SILVA, 2009). Polímeros biodegradáveis são originados de forma natural ou de resinas sintéticas. Os polímeros biodegradáveis naturais são baseados em recursos renováveis como polissacarídeos (amido, celulose, lignina), proteína (gelatina, seda), gorduras (óleos), poliésteres produzidos por plantas e micro-organismos. Já os polímeros biodegradáveis sintéticos possuem ligações hidrolisáveis, como poliésteres, poliamidas, poliuretanas polianidridos e policarbonatos. Alguns polímeros biodegradáveis, como poli (acrilato) e poli (álcool vinílico), possuem ligações carbono-carbono na cadeia com grupos pendentes facilmente oxidáveis (COLTRO, 2014).

Os polímeros sintéticos fazem parte do nosso cotidiano, por esse motivo que representam uma das classes de materiais mais versáteis que existem, apresentando inúmeras aplicações, entre as quais, no setor farmacêutico. Na área de medicamentos e cosméticos, os polímeros são empregados como excipientes. Os excipientes são substâncias, diferente do fármaco, que tem sua segurança avaliada, e a partir de então, pode ser incluído na forma farmacêutica, com intenções variadas, tais como, auxiliar na preparação; fornecer estabilidade física, química e microbiológica ao produto; melhorar a disponibilidade do ativo no organismo; garantir a aceitabilidade do paciente e, melhorar ou promover qualquer outro atributo relacionado à segurança e efetividade (VILLANOVA, ORÉFICE e CUNHA, 2010).

3.4.1 Poli (álcool vinílico)

O poli (álcool vinílico), PVA, representado na Figura 3.5, é um polímero sintético, solúvel em água, que apresenta excelente capacidade de formação de filmes, poder emulsificador e adesivo, sendo largamente empregado nas indústrias de papel, tinta, como ligante para fibras e em materiais cerâmicos. Além disso, o PVA é um dos poucos polímeros sintéticos biodegradável, de forma que sua aplicação vem se estendendo para o setor de liberação de fármacos, devido a sua atoxicidade e biocompatibilidade (TEIXEIRA, 2007).

Figura 3.5: Representação esquemática da estrutura do poli (álcool vinílico) (PVA), (a) monômero e (b) polímero.



Fonte: PEDROSO, 2009.

O PVA é produzido a partir do monômero de acetato de vinila. Essa polimerização ocorre via mecanismo de radical livre sendo, usualmente, em solução alcoólica (metanol e etanol). A reação ocorre em duas etapas, a primeira, consiste na polimerização por adição (radicais livres) dos monômeros de acetato de vinila e, a segunda, ocorre a hidrólise alcoólica alcalina do poliacetato de vinila, resultando no poli (álcool vinílico) (SILVA, 2016).

Dependendo do grau de polimerização e do grau de hidrólise é possível definir as propriedades do PVA. Este quando totalmente hidrolisado não é solúvel em água, porque o grande número de hidroxilas leva à formação de ligações de hidrogênio intra e intermoleculares fortes. No PVA parcialmente hidrolisado os grupos acetatos, que são hidrófobos, enfraquecem as ligações intra e intermoleculares dos grupos hidroxilas vizinhos, o que lhe confere um aumento da solubilidade na água (MARANGON, 2008).

Esse polímero tem ganhado popularidade como suporte para engenharia de tecidos, no desenvolvimento de pâncreas artificial, lentes de contato, músculos artificiais, implantes médicos, córnea sintética, entre outros. É utilizado na área farmacêutica como agente estabilizante de emulsões, agente viscosificante e lubrificante, assim como, em preparações sólidas, principalmente em formas de liberação prolongada. O PVA é um bom candidato para compor sistemas de liberação transdérmico, o NitroDur® é um exemplo desta aplicação, utilizado para liberar de forma controlada nitroglicerina para tratamento preventivo de angina do peito (SILVA, 2016).

3.5 Antibióticos

A utilização de antibióticos é uma das invenções médicas mais importantes na história com relação à redução da morbidade e mortalidade (BALSALOBRE, 2014). Os antibióticos são compostos naturais ou sintéticos que são capazes de inibir o crescimento ou causar a morte de fungos ou bactérias. Quando causam a morte de bactérias, podem ser classificados como bactericidas, ou bacteriostáticos, quando promovem a inibição do crescimento microbiano (GUIMARÃES *et al.* 2010).

Para que o medicamento atue, é preciso que sejam atingidas concentrações eficazes nas estruturas celulares onde a sua ação é necessária. Sendo possível colocar o medicamento diretamente em contato com essa estrutura, como por exemplo, a pele e mucosa, utilizando-se aplicações tópicas. Entretanto, na maioria das situações é necessário recorrer a aplicações sistêmicas, o que requer que seja primeiro atingida a circulação sanguínea para que, posteriormente, possa atingir o local desejado na concentração eficaz (LEITE, 2014).

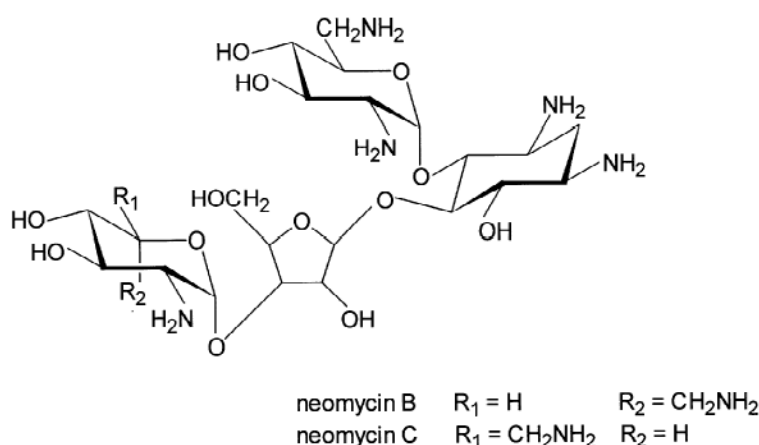
Para que haja um tratamento ideal com o antibiótico, tanto por via oral quanto tópica, o fármaco deve apresentar um comportamento linear de liberação no local infectado em um tempo de liberação suficiente. Os antibióticos livres de qualquer proteção tem um efeito rápido e de curta duração, necessitando de várias doses diárias para que seja obtido o efeito desejado, o que pode resultar em efeitos colaterais graves ao organismo do paciente (REBITSKI, 2015).

3.5.1 Neomicina

A neomicina é um antibiótico aminoglicosídeo, que é um complexo de substâncias formuladas a partir da fermentação da *Streptomyces fradiae*, cujos principais componentes são dois estereoisômeros, neomicina B e neomicina C, como pode ser observado na Figura 3.6. É um fármaco efetivo contra bactérias Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* e *Enterococcus faecalis*) e Gram-negativas (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* e *Proteus vulgaris*). O sulfato de neomicina é um complexo antibiótico solúvel em água utilizado em diversas preparações farmacêuticas, como preparações oftálmicas, tópicas, orais ou para administração intravenosa (FRANCISCO, 2015; STYPULKOWSKA *et al.* 2013; HANKO e ROHRER, 2010).

Este antibiótico é usado principalmente como uso tópico, para o tratamento de infecções bacterianas (MENG *et al.* 2017), além de ser muito utilizado para o tratamento de infecções na pele ou mucosa, como queimaduras, úlceras e dermatoses infecciosas (FRANCISCO, 2015). Como os demais aminoglicosídeos, a neomicina não é praticamente absorvida por via oral, e é utilizada por essa via somente para uma ação local sobre as bactérias intestinais.

Figura 3.6: Estrutura química das substâncias de neomicina.



Fonte: STEAD e RICHARDS, 1997.

Além da indicação da neomicina como agente antimicrobiano, também pode ser utilizada por via oral, para redução do nível do colesterol sanguíneo. O uso da neomicina pode reduzir a taxa de colesterol em até 33%, sendo uma alternativa para o tratamento de hipercolesterolemia do tipo II. Para uso tópico, a neomicina é encontrada na forma de pomadas, cremes, colírios, gotas nasais, frequentemente em associação com outros antibacterianos e corticoides (TAVARES, 2001).

3.6 Processo de *Tape Casting*

Diversas são as técnicas utilizadas para a fabricação de folhas cerâmicas, como prensagem a quente, laminação a quente, dip coating, drop casting e tape casting. Materiais cerâmicos com fina espessura têm sido desenvolvidos nas últimas décadas pelo método *tape casting*, que é um processo de baixo custo e indicado para a produção de materiais compósitos cerâmicos (CORREA *et al.* 2017).

As principais vantagens, desta técnica em relação aos demais métodos mencionados, estão na simplicidade do processo de colagem de fita aliado ao custo relativamente baixo, melhor qualidade superficial do produto final e a produção de peças com espessuras muito finas (VILARDO, 2015; HOTZA, 1997).

O processo *tape casting*, ou colagem de folhas, foi pela primeira vez introduzido durante a Segunda Guerra Mundial, quando houve falta de material para a produção de capacitores de mica, sendo desenvolvido nos anos 40 como um método para formar finas placas de materiais piezoelétricos e capacitores (JABBARI et al., 2016; HOTZA, 1997).

Esta técnica foi amplamente utilizada para a produção de filmes finos a verde e de alta densidade para tecnologias cerâmicas com multicamadas. É um processo de baixo custo que permite produzir fitas cerâmicas com grandes áreas planas, sendo comumente utilizadas em capacitores, células a combustível, dispositivos piezoelétricos, substratos, entre outros (MORENO, 2014).

O método consiste em um processo de modelagem úmido, baseado no vazamento de uma suspensão com natureza pseudoplástica. Esta é composta por um pó inorgânico disperso em um líquido (água ou orgânico) juntamente com a adição do ligante, plastificante, dispersante e surfactante (MANOHARAN et al. 2018, NISHIHORA et al. 2018).

No geral, a suspensão pode ser baseada em um sistema com água ou solvente. Quando esta é à base de água (aquosa) tem diversas vantagens, como a não-toxicidade e o baixo custo, porém a secagem é de difícil controle, assim como, a composição e a espessura do filme. Por outro lado, uma suspensão a base de solventes (não aquosa) tem as vantagens de uma rápida taxa de secagem, menor sensibilidade a rachaduras, mas apresentam as desvantagens de risco a saúde e ao meio ambiente, e o alto custo (LUO e EITEL, 2018; WANG, TANG e XU, 2009).

Diversos são os fatores que podem afetar a estabilidade de uma suspensão coloidal de pós cerâmicos em água, como a força iônica, a presença de óxidos com diferentes cargas superficiais, a natureza e a quantidade de agentes superficiais ativos, a fração de sólidos e a temperatura (TARI, OLHERO e FERREIRA, 2003).

Portanto, as características da suspensão são muito importantes, pois influenciam o arranjo das partículas no corpo a verde. Por isso, a seguir, serão apresentadas algumas concepções relacionadas aos componentes da suspensão.

- Pós Cerâmicos

Para se obter uma maior confiabilidade e um maior empacotamento no processamento cerâmico é necessário um pó bem caracterizado, com pequeno tamanho de partícula. No entanto, quanto menor o tamanho de partícula maior é a área específica, o que não é conveniente, porque faz com que aumente a retração da fita, conseqüentemente, são necessárias concentrações mais altas de aditivos (HOTZA e GREIL, 1995).

- Solventes

Os solventes são utilizados para controlar a viscosidade da suspensão permitindo que ela seja espalhada sobre o filme coletor (geralmente um polímero), proporcionar uma distribuição mais homogênea dos aditivos e dispersar o pó cerâmico (NISHIHORA *et al.* 2018). Como exemplo de solventes que podem ser utilizados temos a água ou líquidos orgânicos como etanol, acetona, isopropanol, entre outros.

- Ligantes

O ligante fornece uma rede que mantém todo o sistema químico em conjunto para o processamento adicional. Essencialmente, a fita cerâmica verde é uma matriz polimérica impregnada com uma grande quantidade de material cerâmico. Isso faz com que apresente efeito em diversas propriedades, como flexibilidade, plasticidade, durabilidade, tenacidade (CARTER e NORTON, 2007). Alguns ligantes utilizados nas suspensões cerâmicas podem ser derivados da celulose, como a metilcelulose (MC), ou ligantes do tipo vinil, como o poli (álcool vinílico) (PVA) (HOTZA, 1997; HOTZA e GREIL, 1995).

- Dispersantes

As partículas tem a tendência de se aglomerarem, principalmente as mais finas, o que o torna necessário para a mistura de um pó fino a um líquido. A

utilização de aditivos dispersantes estabiliza a suspensão cerâmica e evitam a aglomeração das partículas da suspensão (ARAÚJO, 2016).

O dispersante, também conhecido como defloculante, funciona por um processo conhecido como impedimento estérico, de forma que impede a reaproximação das partículas, através do mecanismo de estabilização eletrostática. As moléculas orgânicas de cadeia longa ligam-se as partículas cerâmicas, apontando sua longa calda para fora. Esta orientação, evita que a partícula fique muito próxima e reduz a extensão da aglomeração (CARTER e NORTON, 2007). Portanto, com a adição do dispersante é possível a obtenção de uma suspensão estável, com um melhor empacotamento da fita a verde, a diminuição da quantidade de solvente e, conseqüentemente, aumento da carga de material sólido (MORTARA, 2005).

- Plastificantes

Os plastificantes são substâncias de baixo peso molecular que são comumente adicionados à composição da suspensão com a finalidade de permitir que a fita a verde seja facilmente manipulada sem que ocorra a sua quebra, ou seja, este componente é responsável pela flexibilidade da fita a verde (HOTZA e GREIL, 1995).

- Outros aditivos

Além do solvente, do ligante, do dispersante e do plastificante, ainda pode ser necessária à adição de outros aditivos na formulação da suspensão, como surfactante e antiespumante. Os surfactantes são responsáveis pela alta densidade, a dispersão, estabilidade ao escorregamento, defloculação (MISTLES e TWINAME, 2000). Enquanto que, o antiespumante é aplicado a fim de reduzir as bolhas provenientes do processo de mistura dos reagentes, de forma a evitar defeitos após a etapa de secagem (HOTZA, 1997).

Por fim, algumas regras podem ser discutidas para a preparação da suspensão cerâmica: (1) baixa relação entre os componentes orgânicos e o pó cerâmico; (2) a quantidade de solvente deve ser a menor possível para manter a

suspensão homogênea; (3) a quantidade de dispersante deve ser mínima para assegurar a estabilidade da suspensão; (4) a relação plastificante-ligante de ser ajustada para tornar a fita flexível e resistente (HOTZA, 1997).

De acordo com Gutiérrez e Moreno (2001), todos estes parâmetros citados podem afetar as propriedades finais da fita cerâmica, como a espessura, densidade, porosidade, qualidade da superfície e comportamento mecânico.

Para produzir uma suspensão com o pó bem disperso, o processo de preparação, normalmente, é realizado em duas etapas. Na primeira, o pó é disperso em um líquido e misturado a um dispersante adequado. O segundo passo, são acrescentados os aditivos, como ligante, plastificante, antiespumante, entre outros (JABBARI *et al.* 2016).

Então, a colagem de folhas é realizada através do movimento relativo entre um aparato chamado “*doctor blade*” sobre uma superfície coletora, podendo ser realizada através da movimentação da lâmina sobre uma superfície fixa (processo descontínuo) ou a superfície se move sob uma lâmina fixa (processo contínuo) (HOTZA, 1997). A espessura da fita a ser produzida pode ser controlada pelo ajuste da altura da lâmina em relação à superfície por meio de micrômetros

É de extrema importância o controle e a compreensão da viscosidade da suspensão para a qualidade do produto final. Segundo Hotza (1997) uma barbotina com boas características reológicas deve ter baixa viscosidade para facilitar o processo de colagem, mas não tão baixa a ponto de sedimentar. Por outro lado, para se obter maior densidade a verde após a colagem, a carga de sólidos deve ser relativamente alta, de modo a reduzir a retração final.

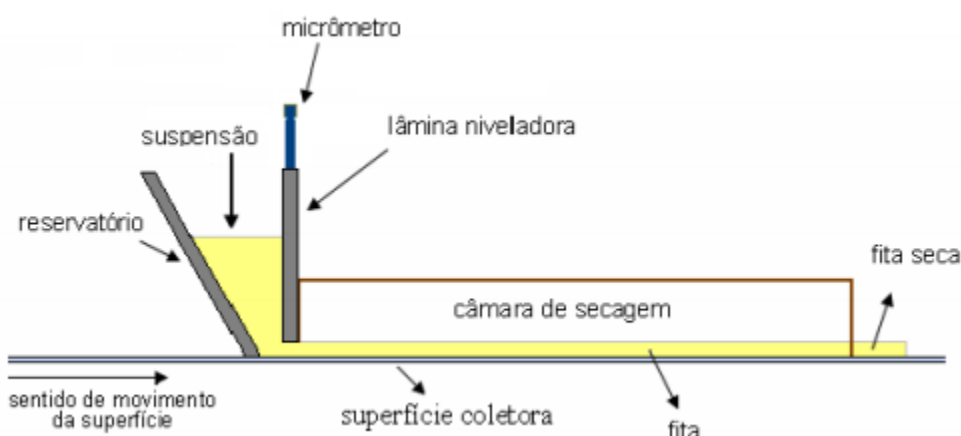
O caráter pseudoplástico do aditivo orgânico pode favorecer o comportamento pseudoplástico da massa cerâmica. De forma que, a viscosidade da massa cerâmica é reduzida com o aumento da taxa de cisalhamento aplicada, então, o processo de deformação é facilitado. Entretanto, o comportamento dilatante não é desejável, já que inviabiliza a obtenção do corpo cerâmico (ARAÚJO, 2016).

As características físicas das partículas, o tipo de interação entre elas, a sua concentração, o peso molecular e a conformação de moléculas do dispersante presente no meio são alguns dos fatores que influenciam no comportamento pseudoplástico (PARDO, 2005).

Como ilustrado na Figura 3.7, o equipamento de *tape casting* é composto por um reservatório, no qual a suspensão será adicionada, no fundo desse reservatório

existe uma abertura que é limitada por uma lâmina niveladora (*doctor blade*), que com o auxílio de um micrômetro pode ser ajustada para a obtenção da fita cerâmica na espessura desejada. Contém, também, uma superfície coletora que se move a uma velocidade constante, estabelecida antes de iniciar o processo e, por fim, uma cabine de secagem.

Figura 3.7: Representação do processo de *tape casting*.



Fonte: DIAS e SOUZA, 2008.

É importante reduzir o tempo de secagem e o consumo de energia na produção dos filmes, sem que os mesmos percam qualidade. O aumento da temperatura gera um aumento da pressão de vapor, levando a formação de bolhas, que prejudicam consideravelmente a qualidade do filme. Durante a secagem ocorre a remoção do excesso de solvente por meio da evaporação, a saída dos voláteis deve ser realizada de forma gradual, a fim de evitar a introdução de defeitos na microestrutura da fita cerâmica (MORAES, RESZKA e LAURINDO, 2014; VILARDO, 2015).

Capítulo 4

Metodologia Experimental

4 METODOLOGIA EXPERIMENTAL

4.1 Reagentes

A Tabela 4.1 apresenta os reagentes utilizados neste trabalho, incluindo sua fórmula, a procedência, função e grau de pureza.

Tabela 4.1: Reagentes empregados para o preparo da fita cerâmica.

Reagente	Fórmula	Fabricante	Função
Paligorskita	$\text{Mg}_5\text{Si}_8\text{O}_{20}(\text{OH})_2(\text{OH}_2)_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	São Pedro - PI	Pó Precursor
Sulfato de Neomicina	$\text{C}_{23}\text{H}_{46}\text{N}_6\text{O}_{13}$	Sigma-Aldrich	Fármaco
PVA	$(\text{C}_4\text{H}_6\text{O}_2)_n$	Sigma-Aldrich	Ligante
Álcool Etílico	$\text{C}_2\text{H}_6\text{O}$	Atrium	Solvente
Álcool Isopropílico	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}$	Vetec	Plastificante
Triton X-114	$(\text{C}_2\text{H}_4\text{O})_n \cdot \text{C}_{14}\text{H}_{22}\text{O}$	Sigma-Aldrich	Dispersante
Cocoamida	$\text{C}_3\text{H}_8\text{O}_3$	Stepan	Surfactante
Antifoam A	-	Sigma-Aldrich	Antiespumante

Fonte: Próprio autor

4.2 Preparação do híbrido paligorskita-neomicina

A preparação do híbrido paligorskita-neomicina (Pal-Neo) deu-se com a dissolução de 0,25g do sulfato de neomicina em 10 mL de água destilada. Em seguida, 0,5 g da paligorskita foi dispersa em 25 mL de água destilada e mantido sob agitação por 30 minutos. A solução do sulfato de neomicina foi adicionada à suspensão de paligorskita. Após a adição do fármaco, foi realizada a medição do pH que se manteve entre 6 e 7. Posteriormente, a mistura paligorskita-neomicina permaneceu em agitação, por um período de 24 horas. O material foi lavado com água destilada e centrifugado por 3 vezes, a fim de remover todo o fármaco que não foi incorporado a paligorskita. Em outro recipiente, foi realizado o mesmo processo, porém a centrifugação ocorreu apenas 1 vez. Por fim, o sólido foi levado à estufa permanecendo por 24 horas a temperatura de 60°C para eliminação da água residual. Ao fim do processo, obteve-se o híbrido paligorskita-neomicina (Pal-Neo).

4.3 Preparo das suspensões

A preparação da suspensão, que será posteriormente utilizada para a produção da fita cerâmica, consiste na mistura do híbrido Pal-Neo, água destilada, álcool etílico e Triton X-114. Esta primeira parte da mistura foi mantida sob agitação em um moinho de bolas, por um período de 48 horas. Antes de acrescentar os componentes orgânicos à suspensão, foi realizada a preparação do PVA que foi dissolvido em água, sob aquecimento, a uma faixa de temperatura de 50°C – 70°C sob agitação constante. Então, após as 48 horas de agitação, foi acrescentada a suspensão, o PVA, o álcool isopropílico, o álcool etílico, a cocoamida e o Antifoam A, sendo novamente levados ao moinho sob agitação por mais 24 horas. A composição utilizada para a preparação desta suspensão pode ser observada na Tabela 4.2.

Tabela 4.2: Composição da fita cerâmica.

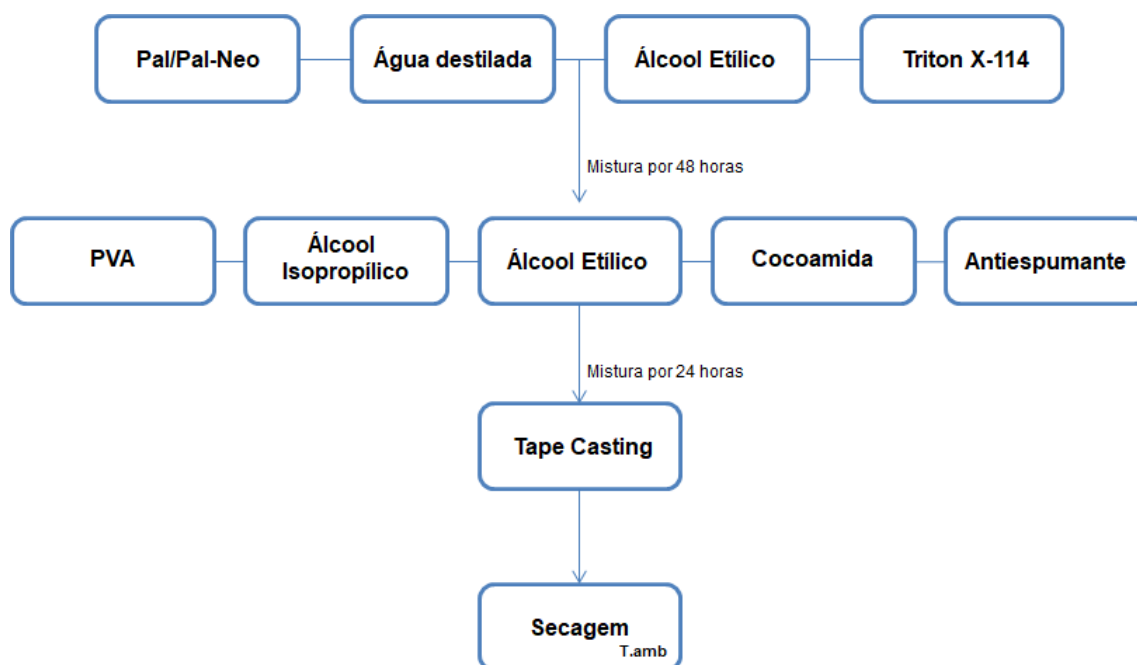
Reagentes	Composição
	wt (%)
Pal/Pal-Neo	22
Água Destilada	30
Álcool Etílico	15
Triton X-114	1,5
PVA	26
Álcool Isopropílico	1,5
Álcool Etílico	2,5
Cocoamida	0,5
Antifoam A	1

Fonte: Próprio autor

4.4 Obtenção das fitas cerâmicas via Tape casting

Para a conformação das fitas cerâmicas foi utilizado o equipamento *Table Top Tape Casting Machine* TTC-1200, (Tape Casting Warehouse, Inc.) a uma velocidade constante de 202,2 mm/min. O processo foi efetuado através do movimento relativo entre uma lâmina niveladora (*doctor blade*) e uma superfície coletora. O *doctor blade* foi calibrado e ajustado na espessura de 0,725 mm. Logo após o ajuste, foi realizada a colagem da fita cerâmica e em seguida, ocorre à secagem da mesma à temperatura ambiente. As etapas de preparação da suspensão e a colagem feita por *tape casting* podem ser observadas na Figura 4.1.

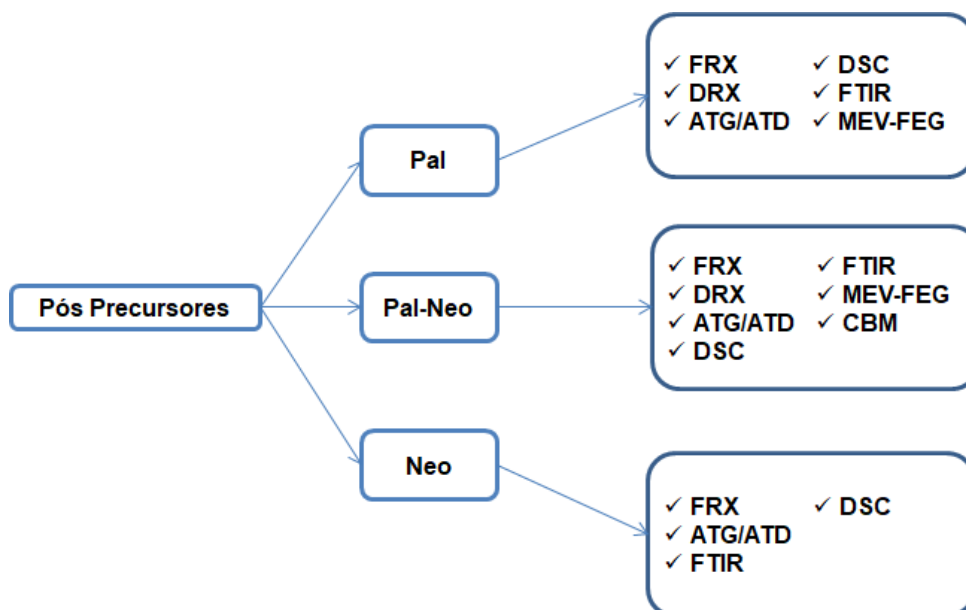
Figura 4.1: Fluxograma das etapas de preparação da suspensão para obtenção da fita cerâmica.



Fonte: Próprio autor

Na Figura 4.2 são apresentadas as caracterizações realizadas nas matérias-primas na forma de pó, a paligorskita (Pal); o híbrido paligorskita-neomicina (Pal-Neo) e o fármaco, sulfato de neomicina (Neo).

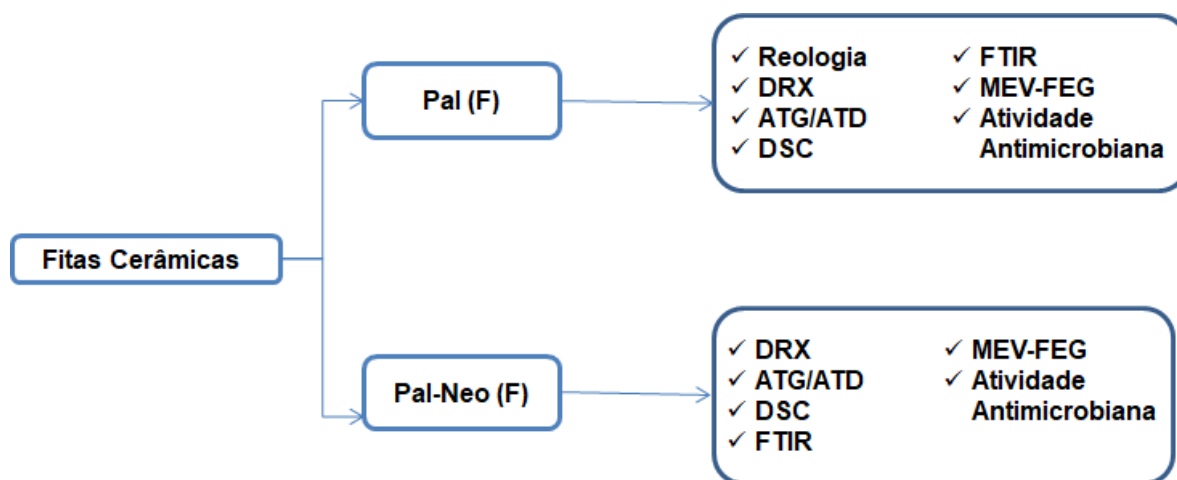
Figura 4.2: Fluxograma das caracterizações dos pós precursores, Pal, híbrido Pal-Neo e Neo.



Fonte: Próprio autor

Na Figura 4.3 são apresentadas as caracterizações realizadas nos nanocompósitos na forma de fita cerâmica obtidos pelo método de *tape casting*, sendo eles, Pal (F) e Pal-Neo (F).

Figura 4.3: Fluxograma das caracterizações das fitas cerâmicas, Pal (F) e Pal-Neo (F), obtidas pelo método de *tape casting*.



Fonte: Próprio autor.

4.5 Caracterização composicional, morfológica e estrutural

4.5.1 Ensaio Reológico

A caracterização reológica foi realizada por meio de ensaios de cisalhamento executados com o auxílio do reômetro. Esse tipo de ensaio gera curvas de cisalhamento que permitem verificar a eficiência de dispersão das partículas e identificar a natureza reológica da mistura. Sendo assim, a medida da viscosidade foi realizada em um viscosímetro modelo *Haake Viscotester da Thermo Fischer Scientific* com sistema cone-placa e sensor PP20 utilizando um intervalo de taxa de cisalhamento de 0 s^{-1} a 600 s^{-1} .

4.5.2 Fluorescência de Raios X

Através da técnica de fluorescência de raios X é possível a identificação dos raios X característicos através da dispersão do comprimento de onda. As intensidades medidas destes raios X característicos estão relacionadas com as concentrações dos elementos na amostra. Os materiais foram caracterizados em um equipamento da marca Bruker S2 Ranger, modelo XFlash® Silicon Drift Detector, utilizando potência máxima de 50 W, voltagem de 50 kV, corrente de 2mA.

4.5.3 Difração de Raios X (DRX)

A identificação das fases cristalinas presentes nos pós e nas fitas cerâmicas foi realizada através da análise de difração de raios X. Os difratogramas de raios X foram obtidos em um difratograma XDR- 7000 da Shimadzu utilizando Cu ($\lambda = 1,54 \text{ \AA}$) como fonte de radiação, 2θ na faixa de 5° a 65° , passo de $0,02$, corrente de 30 mA, voltagem de 40 kV e tempo de contagem por passo de $1^\circ/\text{min}$. Através do banco de dados JCPDS (Joint Committee on Powder Diffraction Standards) foram identificadas as fases cristalinas.

4.5.4 Técnicas Termoanalíticas

Em um sistema de termoanálise, a amostra é colocada em um ambiente na qual é possível observar uma modificação em função da temperatura ou do tempo. As mudanças que ocorre nas amostras são monitoradas por um transdutor que produz um sinal elétrico a mudança química ou física.

4.5.4.1 Análise Termogravimétrica e Análise Térmica Diferencial (ATG/ATD)

A análise termogravimétrica (ATG) é um processo contínuo que mede a variação de massa de uma substância ou material em função da temperatura e/ou do tempo. E a análise termogravimétrica diferencial (ATD) mede a diferença de temperatura entre a amostra e uma substância inerte (referência), enquanto ambas estão submetidas ao aquecimento ou resfriamento. Diante disso, neste estudo, as amostras foram analisadas pelas técnicas de ATG e ATD em um equipamento da marca Shimadzu, modelo DTG – 60, em atmosfera de argônio a um fluxo de 50 mL/min, da temperatura ambiente até 900 °C, com uma taxa de aquecimento de 5°C/min. E, também, foi realizada a análise de TG mudando a atmosfera, foi utilizado um equipamento modelo Mettler Toledo, as amostras foram aquecidas em atmosfera de ar a 10 °C/min na faixa de 30°C a 950°C.

4.5.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

A análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica que mede as temperaturas e o fluxo de calor associado com as transições dos materiais em função da temperatura. Esta análise foi realizada em um calorímetro Mettler Toledo, equipado com sensor e balança FRS5 (precisão de 0,1µm), usando uma taxa de aquecimento de 10°C/min, na faixa de temperatura de 20 °C a 500 °C sob atmosfera de ar.

4.5.5 Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

A espectroscopia de absorção na região no infravermelho determina grupos funcionais de uma amostra, sendo que cada grupo absorve em frequência característica. Essas frequências apresentam vibrações específicas, que podem ser de estiramento ou de deformação, as quais correspondem a níveis de energia da molécula. A região comumente utilizada apresenta número de ondas na faixa espectral de análise entre $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$. Os espectros de absorção na região do infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro Perkin Elmer, modelo SPECTRUM 65 FT-IR com ATR. As amostras na forma de pó foram analisadas por amostragem em disco prensado de KBr (grau espectroscópico), através da análise de FTIR com números de ondas entre $4000 - 800 \text{ cm}^{-1}$.

4.5.6 Análise Elementar (CHN-S)

A análise elementar consiste na determinação dos seguintes elementos químicos: carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N), enxofre (S) e oxigênio (O). Para esta análise foi utilizado o Analisador Elementar (CHNS-O) da THERMO SCIENTIFIC, modelo Flash 2000, equipado com um detector de condutividade térmica e uma microbalança de precisão 0,01.

4.5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-FEG)

A microscopia eletrônica de varredura (MEV) tem como base a interação entre elétrons e a matéria, resultando na emissão de elétrons retroespalhados e de elétrons secundários. Tem como características a obtenção de imagens de superfícies polidas ou rugosas, com grande profundidade de campo, alta resolução, aparência tridimensional e a possibilidade de manipulação e processamento de imagens. A morfologia das amostras foram visualizadas em um microscópio eletrônico de varredura com feixe de emissão de campo (MEV-FEG) da marca ZEISS, modelo Auriga, com uma voltagem de aceleração de 5 kV, utilizando uma distância de trabalho de 3,4 mm. Antes das análises as amostras passaram pelo processo de metalização, ou seja, foram recobertas com ouro, além disso, foram aderidas ao porta amostra por meio de uma fita de carbono.

4.5.8 Atividade Antimicrobiana

Para os testes de atividade antibacteriana dos nanocompósitos foram selecionados 4 micro-organismos, duas bactérias Gram-positivas, *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e duas bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella choleraesuis* (ATCC 10708) crescidas previamente em meio Lúria Bertani (10 g/L de triptona, 5 g/L de extrato de levedura e 5 g/L de NaCl) durante 24 horas a 36 ± 1 °C.

Os testes foram realizados pelo método de difusão em discos de filmes, com diâmetro de aproximadamente 9 mm, em placas de Petri com meio de cultura Ágar Mueller-Hinton. As culturas ativas das bactérias foram inoculadas por espalhamento com auxílio da alça de Drigalski estéril nas placas em um volume de 100 µL.

Em cada placa foi depositado um disco de fita cerâmica de controle negativo (branco) com espessura de 0,725 mm e um disco para a avaliação do potencial antibacteriano com o fármaco inserido, na espessura de 0,725 mm (Pal-Neo). O acompanhamento da liberação do fármaco realizou-se no tempo de contato de 10 minutos, 30 minutos, 1 hora e 2 horas com amostras destrutivas.

Após esse período, retiraram-se as fitas cerâmicas do meio e em seguida a placa voltou para a estufa onde permaneceram por 24h a 36 ± 1 °C. Após o período de incubação, os resultados foram analisados medindo-se o diâmetro do halo de inibição de crescimento das bactérias incluindo o diâmetro do disco do filme, com o auxílio de uma régua.

Este estudo foi realizado no laboratório de Biotecnologia, na Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Erechim-RS.

4.5.9 Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Para os testes de concentração bactericida mínima dos nanocompósitos foram utilizados 4 micro-organismos, duas bactérias Gram-positivas, *Listeria monocytogenes* (ATCC 7644) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) e duas bactérias Gram-negativas, *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Salmonella choleraesuis* (ATCC 10708). Foi utilizado 10µL de cada bactéria para o crescimento em placas ELISA com 300µL (no 1º poço de cada linha) e 150 µL (nos demais poços) de meio

Lúria Bertani (LB: 10 g/L de triptona, 5 g/L de extrato de levedura e 5 g/L de NaCl) durante 24 horas a 35 ± 1 °C em estufa.

Após esse período, foi adicionado 30 mg da paligorskita com a neomicina (Pal-Neo) pré-introduzido no primeiro poço da placa ELISA que continha 300 µL de meio de cultura LB com a bactéria previamente crescida, e realizou-se as diluições retirando-se 150 µL do primeiro poço e depositando-os no segundo poço, e assim, repetindo esse processo até a obtenção das concentrações de 10; 5; 2,5; 1,25; 0,625; 0,3125; 0,15625; 0,078125; 0,039063; 0,019531; 0,009766 e 0,004883. O tempo de contato do pó cerâmico com fármaco sobre as bactérias foi determinado em 10, 30, 60, 120 minutos. Posteriormente, retirou-se 10 µL de cada diluição e depositou-se em uma nova placa ELISA com 200 µL de meio de cultura LB e efetuou-se a leitura (0h) em leitor de ELISA (BIO TEK INSTRUMENTS modelo EL 800). A placa ELISA foi incubada durante 24 horas a $35^{\circ}\text{C} \pm 1$ °C em uma estufa bacteriológica (J.PROLAB modelo JP 101). E por fim, após às 24 horas, realizou-se a leitura da placa em leitor ELISA. Foi definida como concentração bactericida mínima (CBM), a menor concentração capaz de matar o referido micro-organismo, determinada pela diferença de densidade ótica de 24 horas – 0 horas.

Este ensaio foi realizado no laboratório de Biotecnologia, na Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – Campus de Erechim, Erechim-RS.

4.5.10 Modelagem Molecular

O uso de ferramentas de modelagem molecular pode ser útil para uma melhor compreensão do comportamento experimental e das interações entre as moléculas. Nos últimos anos, métodos de modelagem molecular têm sido aplicados nos estudos de adsorção orgânica em superfícies de minerais, incluindo simulações de dinâmica molecular. É possível a determinação através da mecânica clássica as possíveis posições energeticamente mais favoráveis para que ocorra a adsorção.

Para o cálculo do campo de força universal utilizou o método de mecânica molecular “*Universal Forcefield*” para obter os potenciais de interação entre paligorskita e a neomicina. Este módulo permite realizar cálculos para minimizar a energia de conformação da estrutura. A vantagem em se utilizar a mecânica molecular está na economia do tempo computacional, na boa qualidade dos

resultados e na facilidade de obtenção de propriedades estruturais (CARVALHO, 2010).

Os complexos adsorvidos foram otimizados mantendo a estrutura do mineral fixada usando o potencial interatômico empírico com o campo de força (FF) Compass (BORREGO-SÁNCHEZ *et al.* 2016). Para as interações Coulomb e Van der Waals foram utilizados os métodos de Ewald. Essas medidas foram realizadas utilizando o software de modelagem e simulação de materiais, o Materials Studio 6.0, bem como a interface gráfica para analisar e estudar as estruturas cristalinas e moleculares.

Capítulo 5

Resultados e Discussão

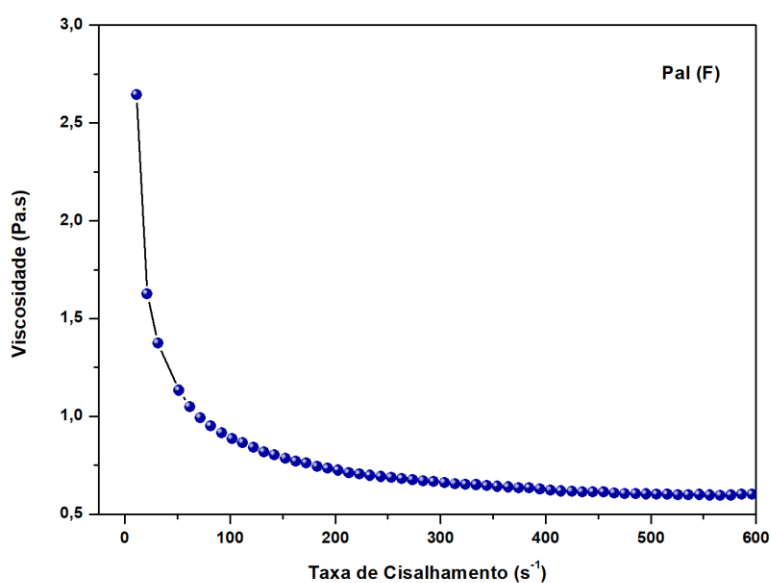
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Ensaio Reológico

Com o objetivo de identificar o comportamento da suspensão cerâmica, foi realizado o ensaio reológico, obtendo-se a curva de viscosidade *versus* taxa de cisalhamento, apresentada na Figura 5.1. Através desta foi possível observar a diminuição da viscosidade das suspensões com o aumento da taxa de cisalhamento, o que caracteriza a suspensão em um comportamento pseudoplástico que, como já visto, é característico de suspensões para o processamento.

As dispersões de sólidos floculados, como é o caso dos argilominerais 2:1, como a paligorskita, apresentam um comportamento tipicamente pseudoplástico. Esse comportamento é devido à quebra progressiva da estrutura do sistema. À medida que aumenta a tensão de cisalhamento mais e mais associações intermoleculares são quebradas, tendendo para um maior fluxo (VISERAS *et al.* 2007).

Figura 5.1: Viscosidade versus taxa de cisalhamento para a suspensão Pal (F).



Fonte: Próprio autor.

Durante o processo de *tape casting*, a tensão de cisalhamento surge da resistência interna proveniente do alongamento da cadeia do material polimérico e da divisão dos aglomerados de partículas, o que resulta em um aumento da viscosidade da suspensão. A aplicação da tensão de cisalhamento através do *doctor blade* leva a diminuição do tamanho das partículas, torna o fluxo da suspensão sem qualquer obstáculo, de forma que a viscosidade da suspensão diminua (JABBARI *et al.* 2016).

De acordo com Gardini *et al.* (2010), a técnica de *tape casting* funciona para suspensões que apresentem o comportamento pseudoplástico, ou seja, que apresente uma viscosidade suficientemente baixa para as taxas de cisalhamento do processo, de forma a garantir condições de fluxo apropriadas durante a passagem pelo *doctor blade*. Este comportamento permite a obtenção de fitas com superfícies homogêneas e planas, fato que contribui para a qualidade final da fita (PERES *et al.* 2018).

5.2 Fluorescência de Raios X

A análise de fluorescência de raios X fornece a relação dos elementos constituintes da argila paligorskita com a sua proporção na forma de óxidos. A composição química da paligorskita é apresentada na Tabela 5.1. Sendo constituída principalmente por óxidos de silício, magnésio e alumínio, observando-se, também, uma composição semelhante em amostras provenientes da Espanha (VISERAS e LOPEZ-GALINDO, 1999). Através deste resultado foi possível observar que Al, Fe e Mg são os principais constituintes das camadas octaédricas da argila.

Tabela 5.1: Composição química da paligorskita.

Paligorskita	
Elemento	Composição (%)
SiO ₂	53,96
Al ₂ O ₃	12,26
MgO	11,6
CaO	10,97
Fe ₂ O ₃	7,48
K ₂ O	1,61
TiO ₂	1,11
Na ₂ O	0,8
MnO	0,17

Fonte: Próprio autor.

Observa-se através da Tabela 5.2 a composição química do fármaco neomicina.

Tabela 5.2: Composição química da neomicina.

Neomicina	
Elemento	Composição (%)
SO ₃	83,14
Na ₂ O	5,2
P ₂ O ₅	3,61
SiO ₂	3,44
MgO	2
Al ₂ O ₃	1,74
CaO	0,38
K ₂ O	0,35

Fonte: Próprio autor.

Através da Tabela 5.3 é possível observar a composição química do híbrido Pal-Neo, obtido pela análise de FRX.

Tabela 5.3: Composição química do híbrido paligorskita-neomicina.

Híbrido paligorskita-neomicina	
Elemento	Composição (%)
SiO ₂	54,71
Al ₂ O ₃	12,45
CaO	10,87
MgO	9,5
Fe ₂ O ₃	8,04
K ₂ O	1,57
TiO ₂	1,28
SO ₃	1,2

Fonte: Próprio autor.

Então, de um modo geral, as amostras apresentam elevados teores de Al e Mg, sendo estes o segundo e o terceiro elemento mais abundante na constituição do argilomineral. A presença de silício tem papel fundamental na reconstrução de tecidos da pele, além de proporcionar maior poder de hidratação e inflamação da pele, e o alumínio pode ser utilizado como agente de cura. Sugere-se, então, que a paligorskita tenha potencial e aumente o seu uso farmacêutico devido a presença de 53,96% de Si e 12,26% de Al (SILVA *et al.* 2014).

5.3 Difração de Raios X

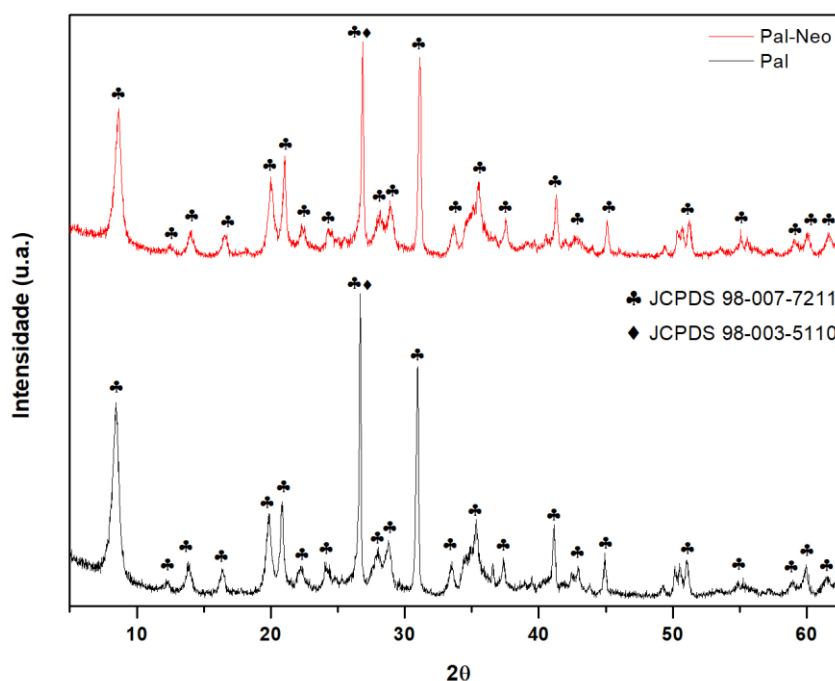
Os padrões de difração de raios X da paligorskita (Pal), e do híbrido Pal-Neo, Pal-Neo, estão ilustrados na Figura 5.4. Os resultados revelaram a formação da fase paligorskita - H₉AlMgO₁₅Si₄ – de estrutura ortorrômbica, segundo ficha padrão (JCPDS 98-007-7211) e quartzo – SiO₂ – de estrutura hexagonal, de acordo com a ficha padrão (JCPDS 98-003-5110). O primeiro pico observado em 2θ = 8,4°, que equivale a uma distância interplanar (d) = 1,05 nm, foi atribuído ao plano basal da

estrutura paligorskita (ZHUANG *et al.* 2017), assim como, está relacionado à difração do plano cristalográfico (110) (MU e WANG, 2016).

Foi possível observar em $2\theta = 26,46^\circ$ que pode ter ocorrido a sobreposição de picos, sendo estes referentes à fase paligorskita, como também a segunda fase, atribuída ao quartzo. Além disso, de acordo com a Figura 5.2, foi possível observar que a estrutura da paligorskita é preservada durante o processo de produção do híbrido Pal-Neo, uma vez que os picos principais da paligorskita permanecem sem mudanças consideráveis. Portanto, os picos de difração da paligorskita mantêm-se inalterados com a introdução do fármaco neomicina.

Han *et al.* (2017) obteve em seu trabalho com a paligorskita, resultados semelhantes quanto a posição dos picos da estrutura cristalina, assim como, a presença de impureza, onde atribuiu ao quartzo.

Figura 5.2: Padrões de Difração de raios X das amostras Pal e Pal-Neo, onde ♣ JCPDS 98-007-7211 e ♦ JCPDS 98-003-5110 representam a paligorskita e o quartzo, respectivamente.

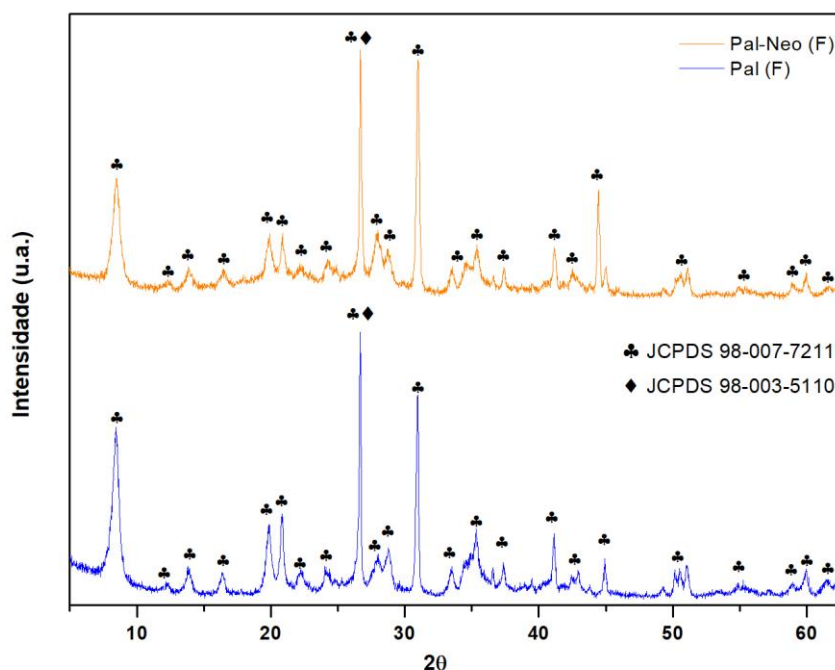


Fonte: Próprio autor.

Os padrões de difração de raios X para as fitas cerâmicas obtidas pelo processo de *tape casting*, Pal (F) e Pal-Neo (F) estão ilustradas na Figura 5.3. Foi possível observar que a adição do material polimérico, para a formação do

nanocompósito, não alterou a estrutura da paligorskita. De forma que o primeiro pico característico da paligorskita em $2\theta = 8,4^\circ$.

Figura 5.3: Padrões de Difração de raios X das amostras Pal (F) e Pal-Neo (F) obtidas pelo método de *tape casting*, onde ♣ JCPDS 98-007-7211 e ♦ JCPDS 98-003-5110 representam a paligorskita e o quartzo, respectivamente.



Fonte: Próprio autor.

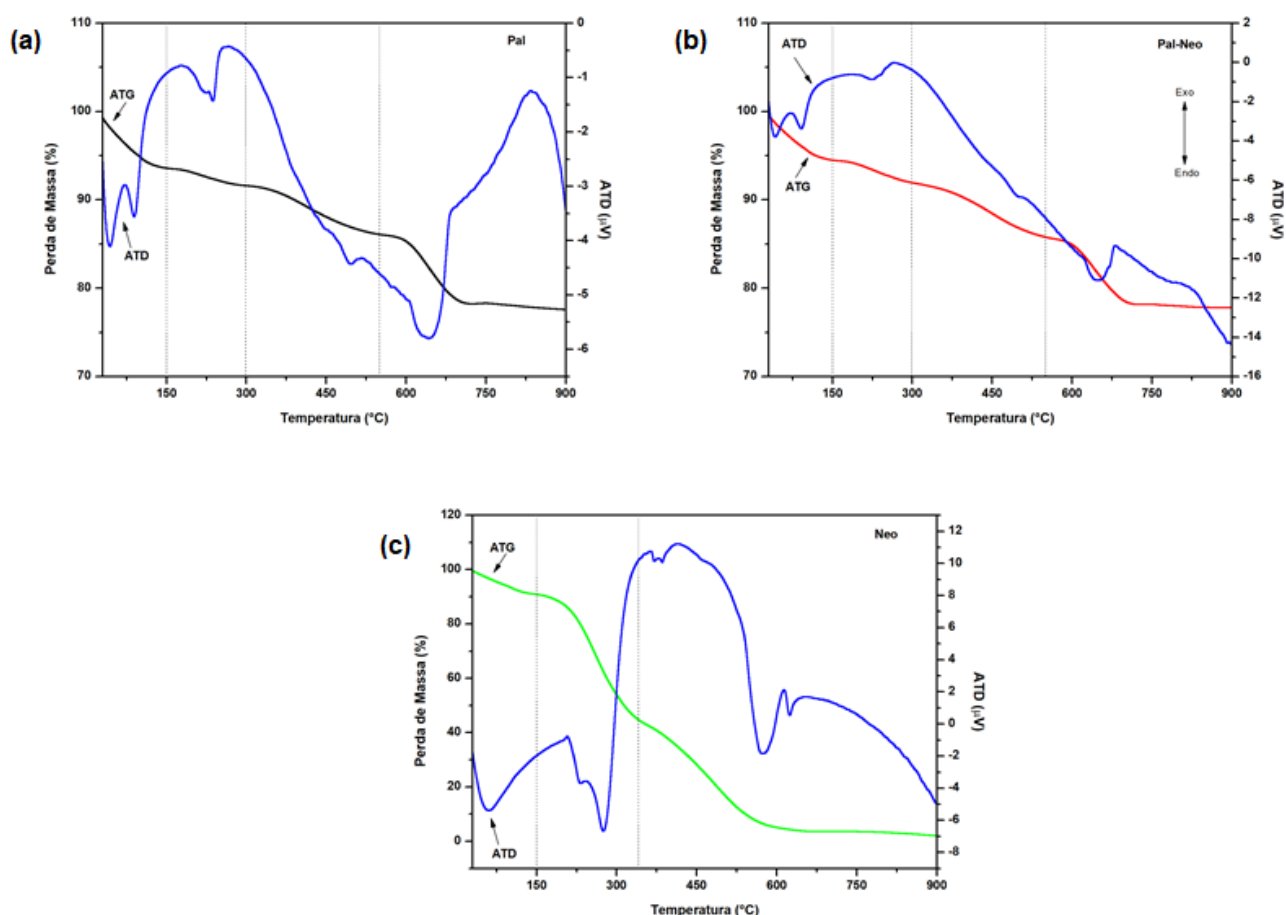
5.4 Técnicas Termoanalíticas

5.4.1 Análise Termogravimétrica e Análise Térmica Diferencial (TGA/ATD)

A análise termogravimétrica dos pós precursores e das fitas cerâmicas obtidas através do método de *tape casting* foram feitas com o intuito de avaliar-se o comportamento térmico das amostras.

As curvas termogravimétricas dos pós precursores das amostras Pal, do híbrido Pal-Neo e da amostra Neo, obtidas em atmosfera dinâmica de argônio, são apresentadas na Figura 5.4.

Figura 5.4: Curvas TG/TDA das amostras (a) Pal, (b) Pal-Neo e (c) Neo, em atmosfera de argônio.



Fonte: Próprio autor.

O perfil térmico da amostra Pal apresentou comportamento semelhante ao híbrido Pal-Neo, sendo possível observar que o processo de perda total de massa ocorreu basicamente em quatro eventos e na faixa de temperatura entre 25 °C e 700 °C. O primeiro evento (25°C – 150°C) refere-se à desidratação de moléculas de água livre. O segundo (150°C – 300°C) pode ser atribuído à desidratação de água zeolítica presentes nos canais da paligorskita. O terceiro evento (300°C – 550°C) pode estar relacionado à desidratação de moléculas de água que se coordenam em cátions centrais no octaedro, bem como a condensação dos grupos silanol e aluminol e, por fim, o quarto evento (550°C – 700°C) pode ser relacionado à remoção de grupos hidroxilas da estrutura cristalina (desidroxilação) (ZHUANG *et al.* 2017; BRIGATTI, GALÁN e THENG, 2006).

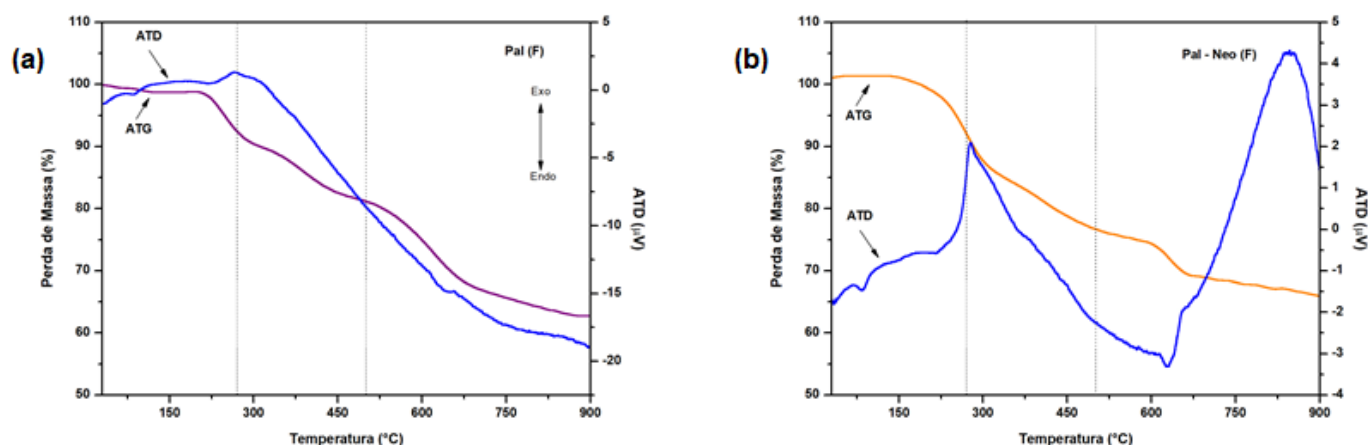
De maneira geral, as três curvas termogravimétricas apresentaram-se similares, porém para a amostra Neo foi verificado que o processo total de perda de massa deu-se em duas etapas, sendo atribuída a decomposição térmica. Assim, foi possível notar que praticamente todos os constituintes orgânicos, logo, toda a carga orgânica, foi eliminada em 600°C.

Nas curvas ATD, foi possível observar quatro estágios endotérmicos, correspondentes a quatro estágios de perda de massa. O primeiro evento (44°C a 199°C) está associado à remoção total de adsorventes e da maior parte da água zeolítica; no segundo (199°C a 349°C), a remoção da água zeolítica remanescente e cerca da metade de água coordenada; o terceiro evento (349°C a 549°C) corresponde à eliminação da água coordenada remanescente e o início da desidroxilação da paligorskita; e o último evento (549°C a 899°C) pode estar atribuído à eliminação total da água constitucional.

Rebitski (2015) em seu trabalho, utilizando o híbrido sepiolita-neomicina, que possui uma estrutura semelhante à paligorskita, sugeriu que a sepiolita exerceu um efeito protetor no fármaco, de forma que conduziu a sua decomposição em apenas uma etapa. Portanto, foi possível observar que a neomicina tenha sido incorporada na estrutura da paligorskita, ou que a neomicina tenha se ligado a paligorskita apenas superficialmente.

As curvas termogravimétricas para as fitas cerâmicas obtidas pelo método de *tape casting* das amostras Pal (F) e Pal-Neo (F) podem ser observadas na Figura 5.5. Foi possível verificar que o processo total de perda de massa, ocorreu em três eventos, iniciando na faixa de temperatura de 25 °C a 270 °C, o qual pode ser atribuído à desidratação de água existente nos compostos. O segundo evento que ocorre entre as temperaturas de 270°C a 500 °C pode estar associado à decomposição do material orgânico presente nos aditivos (ligante, plastificante, dispersante, surfactante e antiespumante). A partir de 500 °C foi possível verificar uma perda de massa que pode estar relacionada à degradação dos constituintes orgânicos residuais presentes na fita cerâmica (PERES et al, 2018).

Figura 5.5: Curvas ATG/ATD das fitas cerâmicas obtidas pelo método *tape casting* (a) Pal (F), (b) Pal-Neo (F), em atmosfera de argônio.



Fonte: Próprio autor.

ARAÚJO (2016) em seu trabalho também observou que a fita cerâmica a base de zircônia estabilizada com ítria produzida pelo método de *tape casting* apresentou um evento de perda de massa considerável em torno de 200°C a 400°C, o qual foi associado à eliminação do sistema de orgânicos utilizado na preparação da amostra.

Com o propósito de inferir faixas de decomposição para os sistemas estudados, na Tabela 5.4 são apresentados os dados percentuais relativos ao processo de decomposição térmica dos pós precursores e das fitas cerâmicas obtidas através do método *tape casting*.

Tabela 5.4: Dados percentuais da decomposição térmica dos pós precursores e das fitas cerâmicas obtidas via *tape casting*.

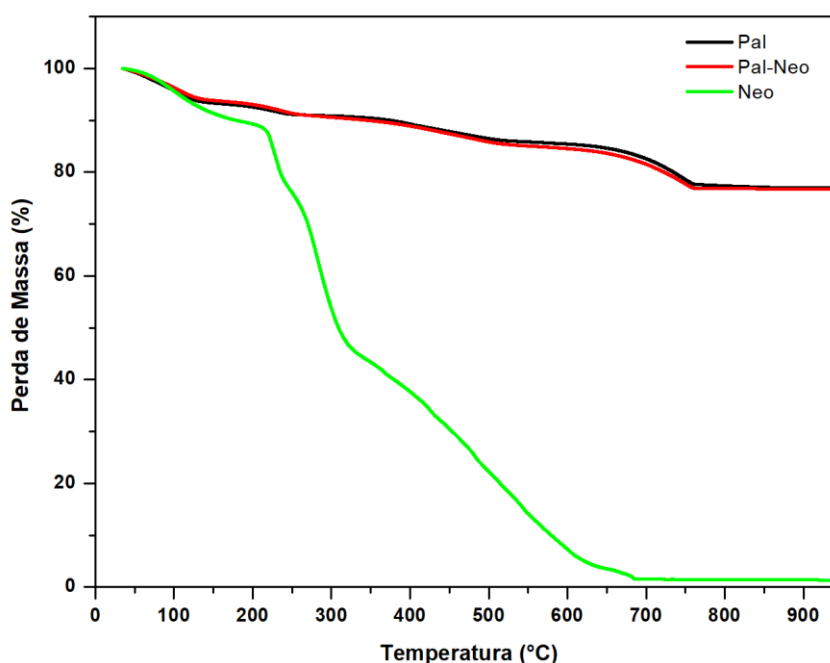
Amostras	Intervalos de temperatura (°C)	Etapas	Perda de Massa (%)
Pal	25 - 150 150 - 300 300 - 550 550 - 730	Desidratação de moléculas de água livre. Desidratação de água zeolítica. Desidratação de moléculas de água que se coordenam em cátions centrais no octaedro. Remoção de grupos hidroxilas da estrutura cristalina.	22,5
Pal-Neo	25 - 150 150 - 300 300 - 550 550 - 730	Desidratação de moléculas de água livre. Desidratação de água zeolítica. Desidratação de moléculas de água que se coordenam em cátions centrais no octaedro. Remoção de grupos hidroxilas da estrutura cristalina.	22
Neo	25 – 150 340 – 600	Decomposição térmica.	98
Pal (F)	25 – 270 270 – 500	Desidratação da água dos compostos. Decomposição do Material orgânico.	37,4
Pal-Neo (F)	25 – 270 270 – 500	Desidratação da água dos compostos. Decomposição do Material orgânico.	34,2

Fonte: Próprio autor

Com isso, constatou-se que as fitas cerâmicas Pal (F) e Pal-Neo (F) apresentaram valores de perda de massa muito semelhantes, o que podemos concluir que mesmo com a inserção do fármaco neomicina não houve uma mudança significativa nesses valores, 37,4 % para a amostra Pal (F) e 34,2 % para Pal-Neo (F).

A análise de TG foi novamente realizada, em atmosfera de ar, a fim de determinar se houve mudança na curva da paligorskita, quando inserido o fármaco neomicina. As curvas das amostras Pal, Pal-Neo e Neo podem ser visualizadas na Figura 5.6.

Figura 5.6: TGA das amostras Pal, Pal-Neo e Neo analisadas em atmosfera de ar.



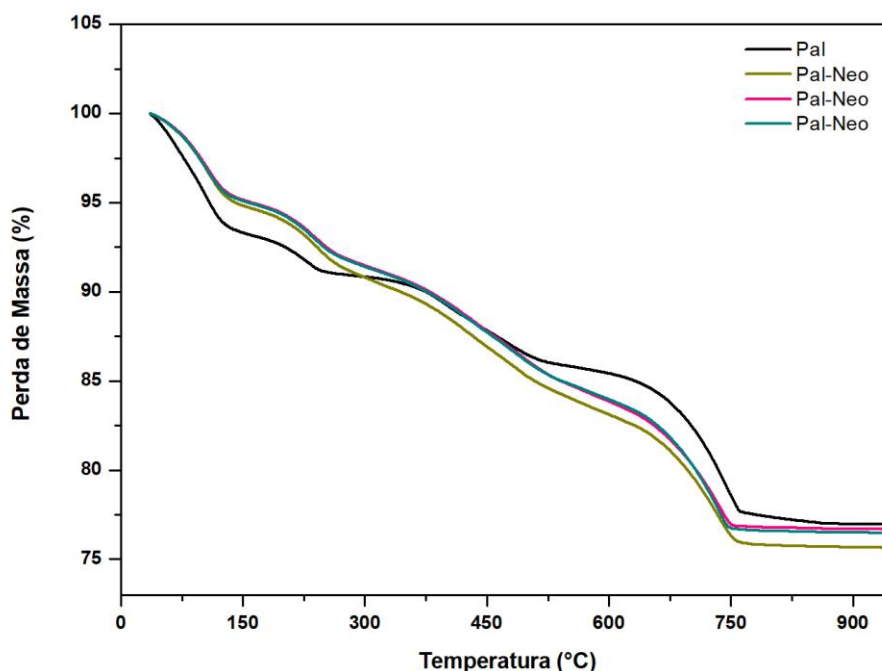
Fonte: Próprio autor.

Através das curvas de ATG da paligorskita, do híbrido Pal-Neo e do fármaco Neo, foi possível observar que não houve mudança no híbrido Pal-Neo, ou seja, não sendo possível afirmar através desta análise se houve ou não incorporação do fármaco nos canais da paligorskita.

A Figura 5.7 apresenta as curvas das amostras Pal e do híbrido Pal-Neo, com apenas uma lavagem. As amostras foram feitas em triplicada para que não

houvesse dúvidas quanto à incorporação do fármaco na paligorskita, já que a neomicina, por ser solúvel em água, poderia estar saindo dos canais da argila durante a lavagem.

Figura 5.7: Análise de TG do híbrido Pal-Neo com apenas uma lavagem.



Fonte: Próprio autor.

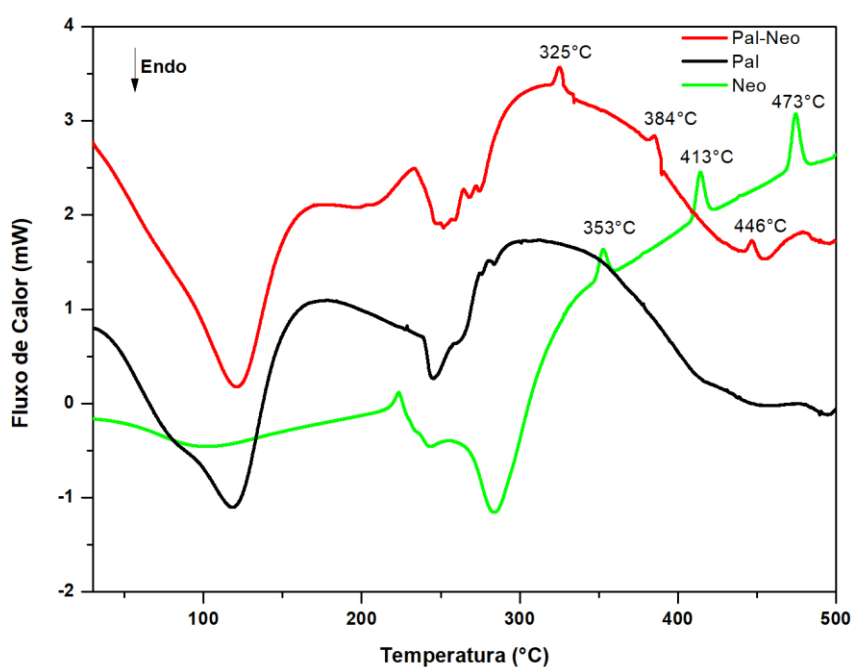
Com a análise dessas curvas, foi possível constatar que o híbrido produzido a partir de 1 lavagem não apresentou mudança nos resultados obtidos na incorporação do fármaco na argila. De forma que, o fármaco pode estar se ligando a paligorskita de forma superficial, ou que a quantidade incorporada foi muito pequena, não havendo mudanças consideráveis no perfil da curva TGA.

Resultados encontrados por Carazo *et al.* (2018) mostraram que ao produzir um híbrido de paligorskita com o fármaco isoniazida. A interação fármaco-argila mostrou uma remoção parcial das moléculas de água colocadas nos canais estruturais ou ligadas à superfície externa do argilomineral. A curva apresentou uma menor inclinação da decomposição do fármaco, indicando um efeito protetor da argila na degradação térmica da isoniazida.

5.4.2 Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC)

Na Figura 5.8 encontram-se os termogramas realizados nos componentes individuais e comparados com o mineral de argila carregado com o fármaco. O DSC foi utilizado para determinar a presença do fármaco no híbrido e as alterações induzidas pela interação entre a argila e o fármaco.

Figura 5.8: Curvas de DSC para as amostras Pal, Pal-Neo e Neo.

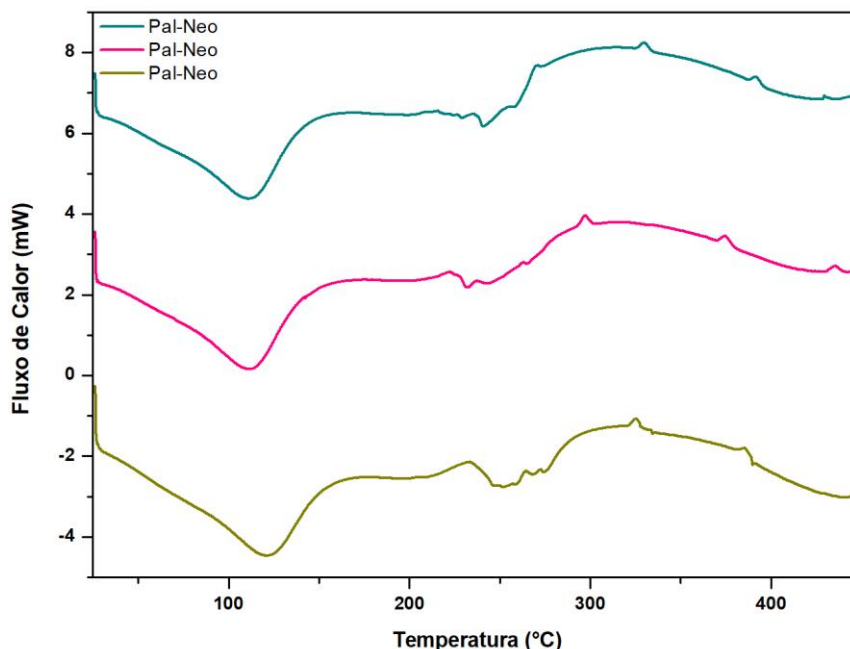


Fonte: Próprio autor.

No termograma da neomicina foi possível observar três picos exotérmicos nas temperaturas de 353°C, 413°C e 473°C. Enquanto que na paligorskita, os três picos localizados em 120°C, 244°C e 283°C foram atribuídos à liberação de moléculas de água adsorvidas fisicamente, moléculas de água zeolíticas e de coordenação e à condensação dos grupos de superfície. Os resultados estão em concordância com XAVIER *et al.* (2016). Ao comparar-se o híbrido às demais curvas, foi observado-se que este apresentou os três picos exotérmicos que estão presentes na curva da neomicina. O que pode-se inferir que houve a incorporação do fármaco na argila paligorskita.

Na Figura 5.9 observam-se as curvas de DSC para as triplicatas do híbrido Pal-Neo, com apenas uma lavagem.

Figura 5.9: Curvas de DSC para as triplicatas do híbrido Pal-Neo.



Fonte: Próprio autor.

Com a finalidade de confirmar os dados obtidos na Figura 5.8, foi possível realizar um novo ensaio para a amostra do híbrido Pal-Neo, em triplicata para uma lavagem. Verificou-se os picos exotérmicos característicos da neomicina. Confirmando que houve a incorporação da neomicina, e que a lavagem não influenciou nos resultados obtidos.

5.5 Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR)

Para avaliar as possíveis interações entre a paligorskita e a neomicina foi realizada a caracterização por espectroscopia de absorção na região do infravermelho, mostrada na Figura 5.10, para as amostras Pal, Pal-Neo e Neo.

Para os espectros da amostra Pal foi possível observar bandas em aproximadamente 3618 cm^{-1} e 3589 cm^{-1} , estas podem ser atribuídas às vibrações de estiramento dos grupos $\text{Mg}_3\text{-OH}$, Al-OH-Fe^{3+} e Al-OH-Al . Também foi verificada

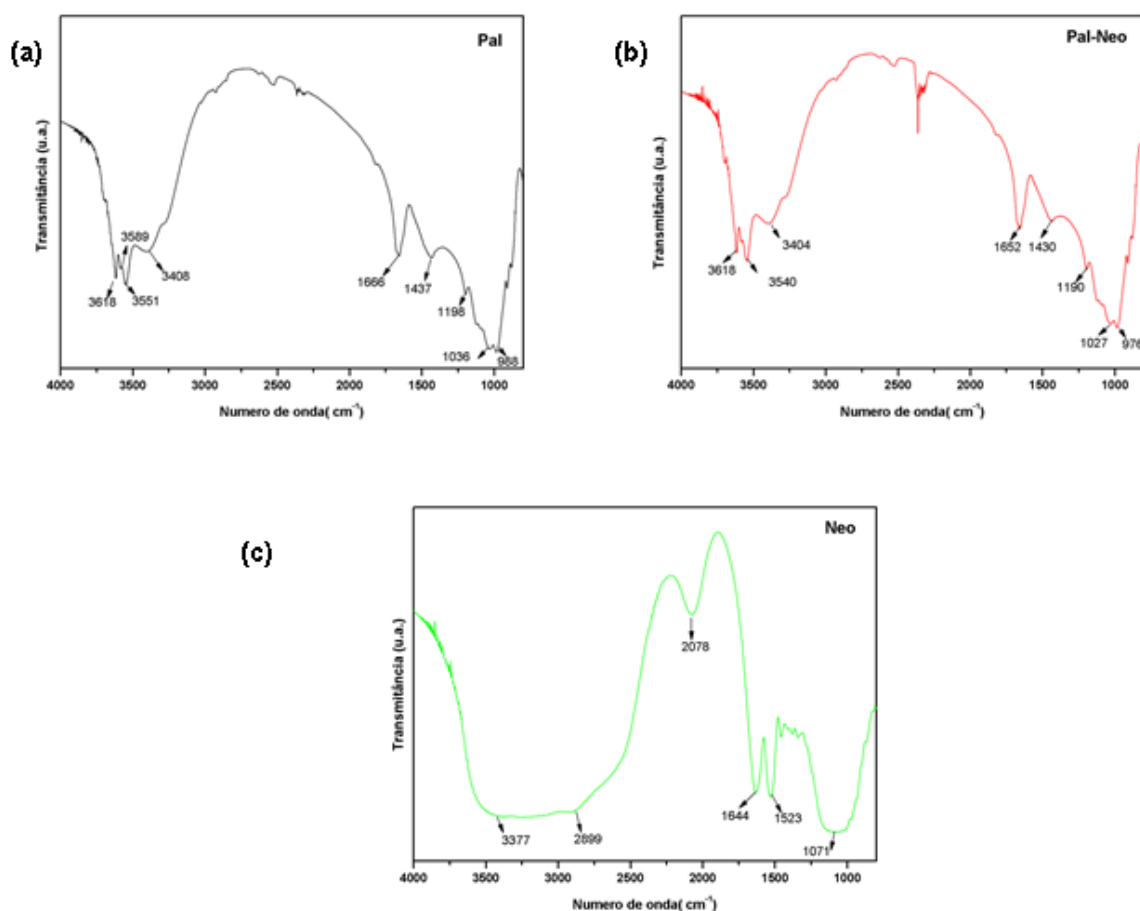
uma banda de absorção em aproximadamente 3551 cm^{-1} , no qual pode estar associada ao estiramento vibracional da água. Em aproximadamente 3408 cm^{-1} ocorre o estiramento vibracional das moléculas de água, incluindo a água zeolítica e água adsorvida na superfície da paligorskita (YAN *et al.* 2012), enquanto que a banda em 1666 cm^{-1} foi atribuída à deformação angular das moléculas de água (OLIVEIRA, 2011).

As bandas em 1198 cm^{-1} e 1036 cm^{-1} podem ser atribuídas às vibrações dos estiramentos assimétricos das ligações Si-O-Si e Si-O₃-Si, respectivamente. Já a banda situada em 988 cm^{-1} está relacionada ao modo assimétrico do grupo terminal O' – SiO₃ (OLIVEIRA *et al.* 2013).

Com relação ao híbrido Pal-Neo, não houve aparecimento de bandas quando comparada a amostra de paligorskita (Pal), o que se pôde notar foi que houve um deslocamento de algumas destas bandas, podendo ser associada à interação de hidrogênio entre os grupos silanóis do silicato e o grupo funcional do fármaco (REBITSKI, 2015).

O espectro da neomicina demonstrou uma banda muito larga em torno de 3400 cm^{-1} , a qual pode ser atribuída a estiramentos das ligações O-H, referentes às moléculas de águas coordenadas. Os picos característicos em torno de 3377 cm^{-1} , decorrente do estiramento das bandas de O-H aliado ao estiramento do N-H. O estiramento da ligação N-H ocorre na faixa de 3500 cm^{-1} e 3300 cm^{-1} (SWATHI *et al.* 2013). Aminas primárias apresentam duas bandas, enquanto as secundárias têm uma banda bastante fraca em compostos alifáticos e uma banda de média intensidade em aminas secundárias aromáticas (SILVERSTEIN, WEBSTER e KIEMLE, 2006). Na região de 2899 cm^{-1} foi possível observar a banda de estiramento C-H; em 1644 cm^{-1} verificou-se a deformação angular das moléculas de H₂O; para a banda de 1530 cm^{-1} ocorreu o estiramento C-C e em 1075 cm^{-1} ocorre o estiramento C-O (PENG *et al.* 2013).

Figura 5.10: Espectros de infravermelho na região de 4000 – 800 cm^{-1} correspondente às amostras de (a) Pal, (b) Pal-Neo e (c) Neo.



Fonte: Próprio autor.

5.6 Análise Elementar (CHN-S)

A quantidade de neomicina adsorvida no material Pal-Neo, foi determinada mediante análise química elementar, os valores podem ser observados na Tabela 5.5. A análise foi realizada em duas áreas diferentes da fita cerâmica Pal-Neo (F).

Tabela 5.5: Resultado da análise elementar para as amostras Pal-Neo, Pal-Neo (F).

Amostras	N (%)	C (%)	H (%)	Total (%)
Pal-Neo	0,21	2,92	1,56	4,69
Pal-Neo (F)	0,21	15,67	3,49	19,37
Pal-Neo (F)	0,2	17,62	3,97	21,79

Fonte: Próprio autor.

Através desta análise foi possível estimar quanto de fármaco está presente nas amostras, de acordo com o percentual de nitrogênio obtido em cada uma delas. Como este valor foi próximo para as três amostras, os cálculos foram realizados no valor de 0,21% de N. O resultado obtido de fármaco que incorporou no híbrido Pal-Neo foi de, aproximadamente, 1,53%, este valor foi obtido através do cálculo baseado na formulação química da neomicina ($C_{23}H_{46}N_6O_{13}$). Portanto, a quantidade de neomicina incorporada pela paligorskita foi muito pequena.

Foi realizada, também, a análise elementar nas triplicatas do híbrido Pal-Neo, com apenas uma lavagem, este resultado está apresentado na Tabela 5.6.

Tabela 5.6: Resultado da análise elementar para as triplicatas do híbrido Pal-Neo.

Amostras	N (%)	C (%)	H (%)	Total (%)
Pal-Neo	0,38	3,33	1,63	5,34
Pal-Neo	0,42	3,58	1,56	5,57
Pal-Neo	0,41	3,58	1,54	5,53

Fonte: Próprio autor.

Diante dos percentuais de nitrogênio, foi possível realizar o mesmo cálculo para a obtenção da quantidade de fármaco que foi incorporado na argila paligorskita, tendo a diferença de que, neste caso, o híbrido passou por apenas uma lavagem. Com isso, foi possível obter que menos de 3% de neomicina se encontra nos canais ou na superfície do argilomineral.

5.7 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV-FEG)

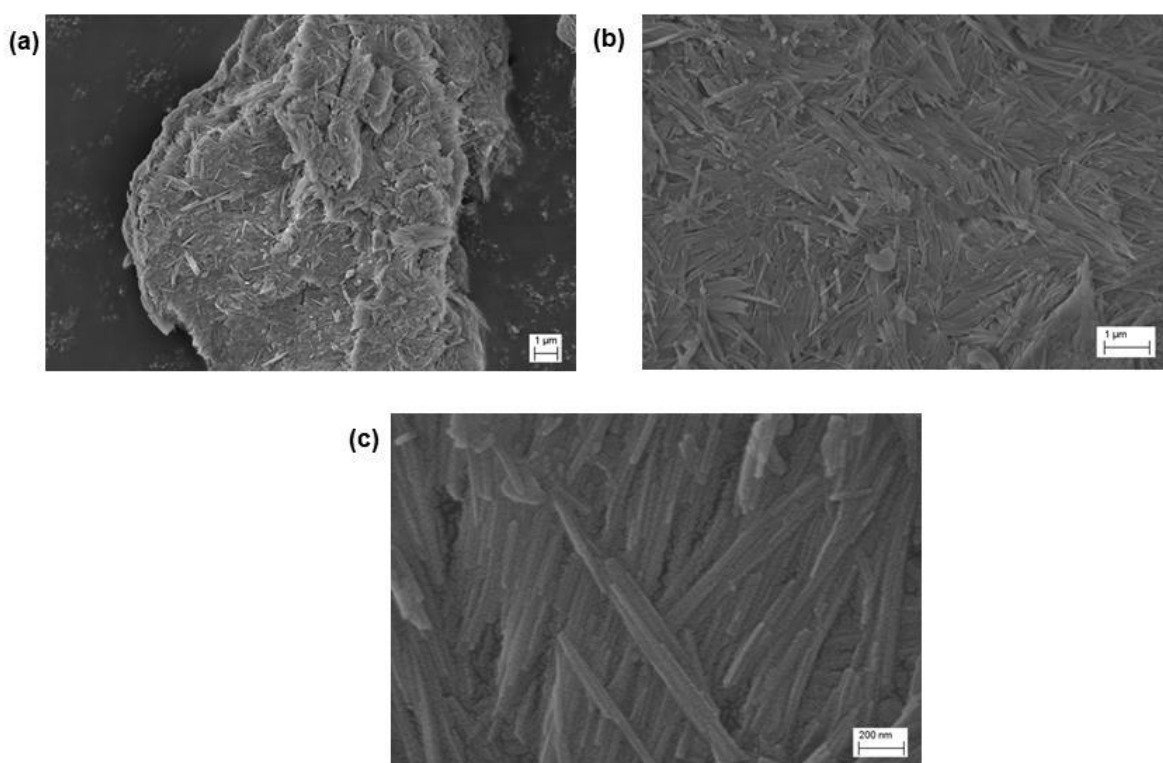
Os aspectos morfológicos do pó precursor (Pal), do híbrido Pal-Neo e das fitas cerâmicas obtidas pelo método de *tape casting*, Pal (F) e Pal-Neo (F), podem ser observadas nas Figuras 5.11, 5.12, 5.13 e 5.14.

Na Figura 5.11 encontram-se as micrografias do pó precursor, paligorskita. De um modo geral, foi possível notar que esta apresenta cristais em forma de agulha, confirmando a estrutura fibrosa. Segundo GALAN (1996) e BRIGATTI, GALAN e THENG (2006), os filossilicatos em cadeia apresentam um comportamento fibroso, com canais que funcionam paralelos ao comprimento da fibra. O tamanho das fibras varia em cerca de 10 nm a 30 nm de largura e 5 a 10 nm de espessura. Além disso,

foi possível observar nas micrografias que as fibras da paligorskita têm tendência a formar aglomerados e apresentar uma distribuição de forma irregular (HAN *et al.* 2017).

A estrutura do cristal da paligorskita, a forma como é empilhada e a dimensão nanométrica das agulhas, faz com que apresente grande quantidade de poros e tenha uma melhor capacidade de troca iônica. Apresentando excelentes propriedades coloidais, adsorventes, de reforço e estabilidade térmica e mecânica. Sendo aplicada como ideal candidato em muitos campos da nanotecnologia, como agentes coloidais ou estabilizadores (WANG e WANG, 2016).

Figura 5.11: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) da amostra Pal com aumento de (a) 5 KX, (b) 10 KX e (c) 50 KX.



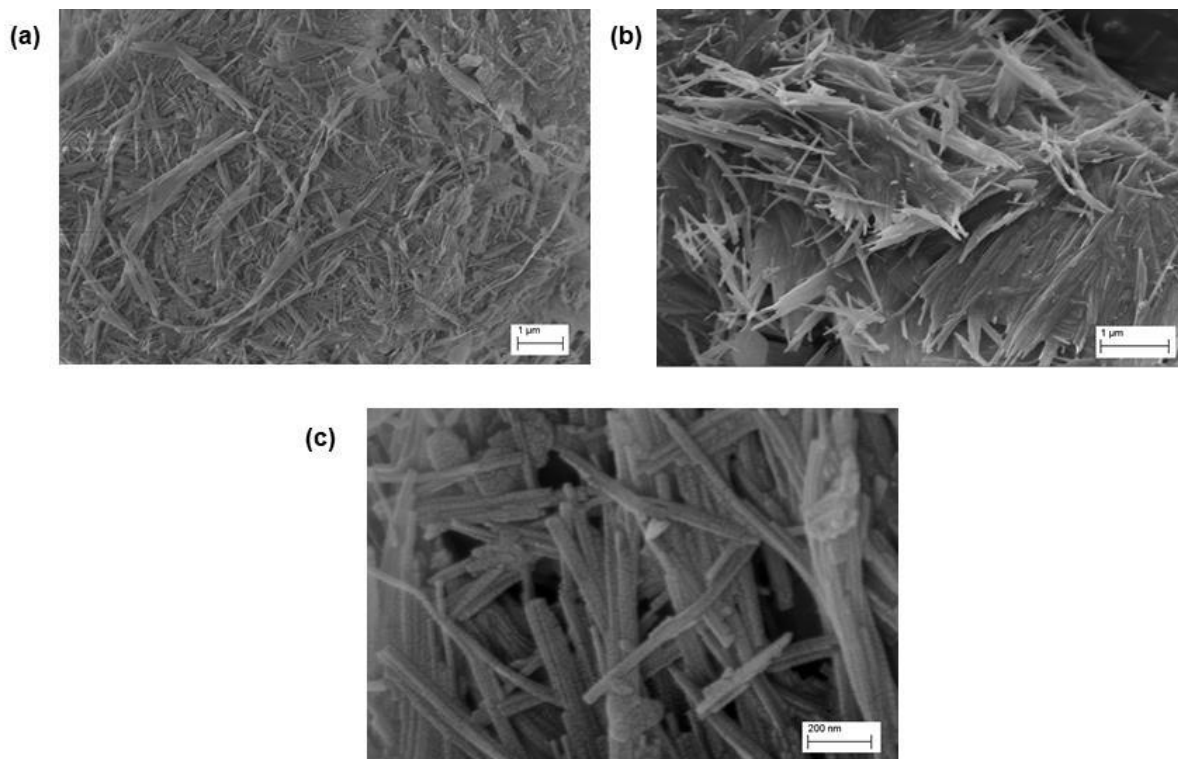
Fonte: Próprio autor.

Conforme Suárez *et al.* (2007), o mineral natural paligorskita é composto de uma estrutura de fibras, que são as estruturas de menor tamanho; os bastões, que está relacionada à orientação das fibras; e os feixes, que é a associação de bastões.

A morfologia do material híbrido Pal-Neo pode ser observada através da Figura 5.12. As imagens apresentam uma morfologia característica da paligorskita, de caráter fibroso. Porém, quando comparada às micrografias da paligorskita

natural, é possível observar que as fibras do híbrido paligorskita com a neomicina estão menos aglomeradas, podendo ser associado aos processos realizados de agitação e centrifugação.

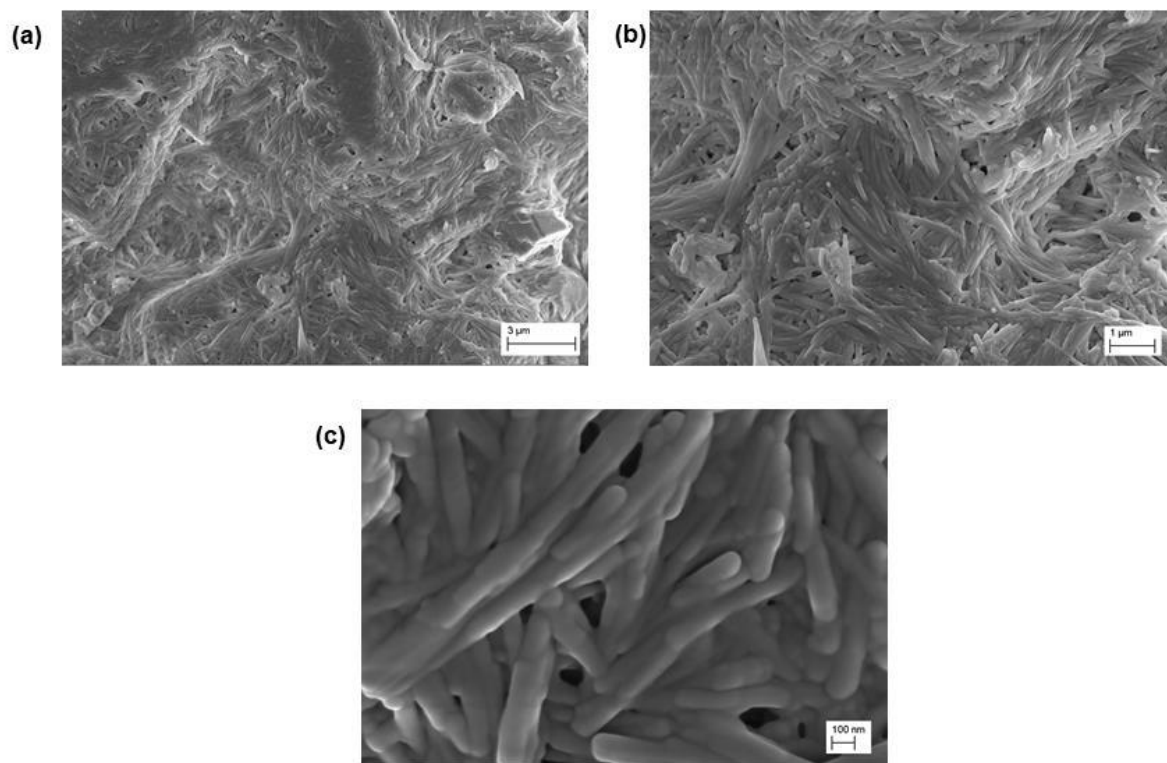
Figura 5.12: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) do híbrido Pal-Neo com aumento de (a) 10 KX, (b) 15 KX e (c) 70 KX.



Fonte: Próprio autor.

Na Figura 5.13 podem ser observados os aspectos morfológicos do nanocompósito produzido com a argila paligorskita, o polímero PVA e demais materiais orgânicos. A dispersão da argila na matriz polimérica é de fundamental importância sobre as propriedades mecânicas destes nanocompósitos (ZHOU *et al.* 2017). Foi possível verificar a distribuição homogênea da matriz polimérica e do reforço cerâmico, consequentemente, apresentando propriedades finais adequadas para o seu uso.

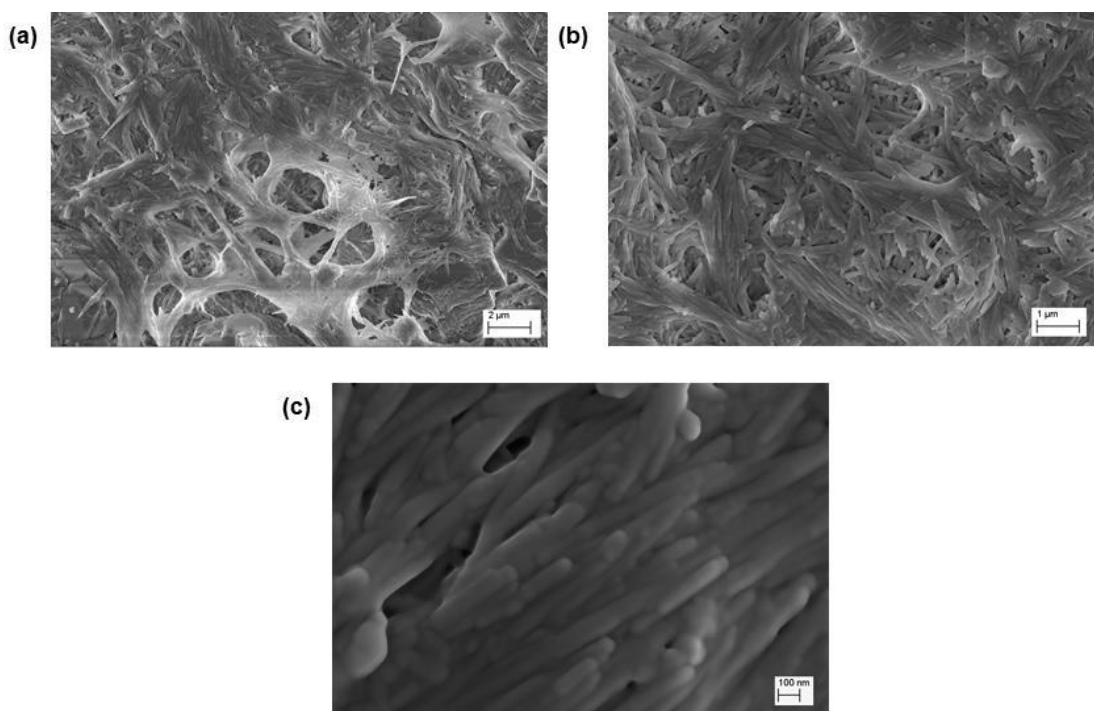
Figura 5.13: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) do nanocompósito de Pal (F) com aumento de (a) 5 KX, (b) 10 KX e (c) 50 KX.



Fonte: Próprio autor.

Na Figura 5.14 encontram-se as micrografias do nanocompósito formado pelo material polimérico PVA e do híbrido Pal-Neo no formato de fita cerâmica obtido pelo método de *tape casting*. Foi possível observar que, quando comparada às imagens da amostra Pal (F), a fita cerâmica Pal-Neo (F) apresentou uma maior porosidade. Entretanto, através da micrografia com um aumento de 50 KX foi possível notar a interface formada entre o material polimérico e o híbrido Pal-Neo, que está distribuída de forma homogênea contribuindo na resistência mecânica das fitas cerâmicas.

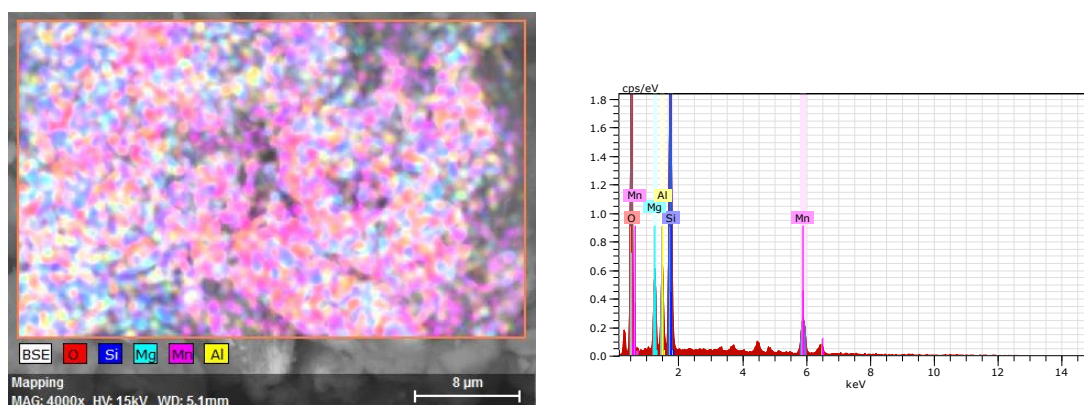
Figura 5.14: Imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura com Emissão de Campo (MEV-FEG) do nanocompósito de Pal-Neo (F) com aumento de (a) 5 KX, (b) 10 KX e (c) 50 KX.



Fonte: Próprio autor.

A Figura 5.15 apresenta a identificação dos elementos químicos e o mapeamento através do EDS. Sendo possível observar a presença dos elementos característicos da paligorskita, como Mg, Al, Si e Fe. Ma *et al.* (2015) também observaram as mesmas características. Assim como, foi possível observar que a paligorskita apresente em maior proporção de óxido de silício.

Figura 5.15: Mapeamento da amostra Pal por EDS com aumento de 4 KX.



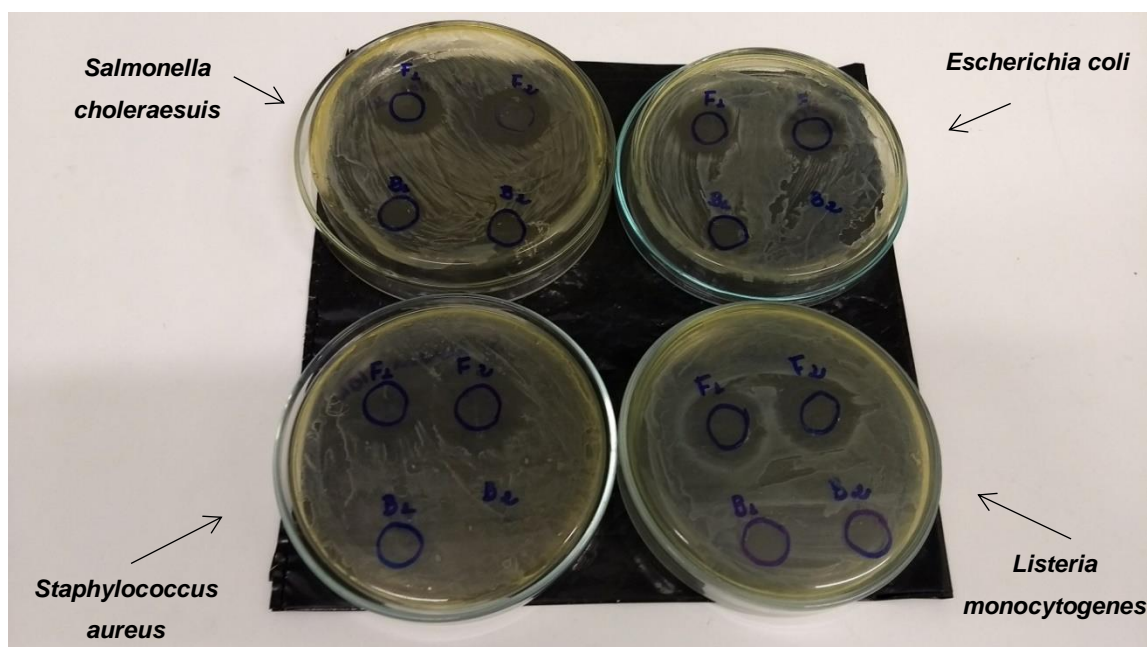
Fonte: Próprio autor.

5.8 Atividade Antimicrobiana

A atividade antibacteriana foi realizada pelo método de difusão em discos, sendo utilizados discos de fita cerâmica Pal-Neo (F) e Pal (F), sendo este último chamado de “controle”, por não conter o fármaco.

As culturas bacterianas de *Salmonella choleraesuis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Listeria monocytogenes*, foram inoculadas nas placas de Petri com meio de cultura Ágar Mueller-Hinton. Após o crescimento do micro-organismo, foi possível evidenciar se houve ou não a formação do halo de inibição para as quatro bactérias testadas, os quais se encontram representados na Figura 5.16.

Figura 5.16: Imagens das placas de testes de incubação das fitas cerâmicas para as diferentes bactérias.



Fonte: Próprio autor.

As fitas cerâmicas Pal (F), utilizadas como controle, não apresentaram nenhuma atividade antibacteriana, devido à ausência do princípio ativo na matriz. Enquanto, que na amostra Pal-Neo (F) foi possível observar a formação do halo. Esse halo foi medido com o auxílio de uma régua e os resultados das fitas cerâmicas Pal-Neo (F) sobre as bactérias testadas são mostrados na Tabela 5.7.

Tabela 5.7: Medidas do halo de inibição para a fita cerâmica Pal-Neo, medida pelo método de difusão de placas sobre bactérias Gram-positivas e Gram-negativas.

Bactéria	ATCC*	Halo de inibição médio (mm)			
Bactérias Gram-Positivas		10 minutos*	30 minutos*	60 minutos*	120 minutos*
<i>Listeria monocytogenes</i>	7644	12 ± 2	18 ± 1	18 ± 2	20 ± 1
<i>Staphylococcus aureus</i>	25923	14 ± 1	20 ± 0	22 ± 1	23 ± 1
Bactérias Gram-Negativas					
<i>Escherichia coli</i>	25922	17 ± 3	22 ± 0	21 ± 1	22 ± 0
<i>Salmonella choleraesuis</i>	10708	14 ± 0	21 ± 1	20 ± 1	20 ± 0

*ATCC: American Type Culture Collection – USA

Observou-se que houve a formação de halo de inibição em todas as bactérias testadas. Além disso, o aumento do tempo de contato fez com que o valor do halo de inibição para as bactérias Gram-positivas aumentasse, entretanto, para as bactérias Gram-negativas o diâmetro do halo aumenta somente até os primeiros 30 minutos. Portanto, a neomicina apresentou um efeito inibitório sobre o crescimento das bactérias, provando-se capaz de danificar a membrana citoplasmática das bactérias testadas.

O maior valor de halo de inibição foi 23 mm para a bactéria *Staphylococcus aureus* após o tempo de contato de 120 minutos. O menor encontrado foi 12 mm para a bactéria *Listeria monocytogenes* no tempo de contato de 10 minutos. Para o micro-organismo *Escherichia coli* o tempo de contato não variou muito após 10 minutos de contato, atingindo o maior valor de halo de inibição (22 mm) em 30 minutos. O mesmo foi evidenciado para *Salmonella choleraesuis*, onde o maior valor foi 21 mm no tempo de contato de 30 minutos. Podendo-se observar que o tempo de contato influencia na formação do tamanho do halo, o que pode ser atribuído à liberação gradativa do fármaco no meio de cultura.

De acordo com Safaei e Taran (2017), a eficiência das nanopartículas na estrutura do nanocompósito é influenciada por suas características, como tamanho de partícula, morfologia e área específica. Então, com a redução do tamanho das

nanopartículas e aumento da área, aumentaria a atividade antibacteriana. Além disso, a espécie da bactéria influencia na sensibilidade e na atividade antibacteriana das nanopartículas.

5.9 Concentração Bactericida Mínima (CBM)

A Concentração Bactericida Mínima (CBM) é definida pela menor concentração da substância antimicrobiana capaz de matar um isolado bacteriano previamente crescido. O método utilizado foi o de microdiluição em placas. A CBM foi determinada frente aos mesmos antimicrobianos analisados no teste descrito anteriormente, como é possível observar na Tabela 5.8.

Tabela 5.8: Análise de CBM para as amostras Pal-Neo.

Tempo de contato (min)	Concentração Bactericida Mínima (CBM)			
	Gram negativas		Gram positivas	
	<i>Escherichia coli</i>	<i>Salmonella choleraesuis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
	ATCC 25922	ATCC 10708	ATCC 7644	ATCC 25923
Pal-Neo				
10	2,5%	1,25%	5%	> 10%
30	2,5%	1,25%	5%	10%
60	2,5%	1,25%	10%	> 10%
120	2,5%	1,25%	10%	> 10%

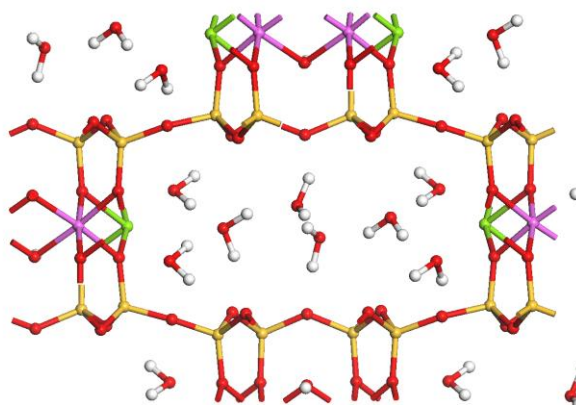
Através da Tabela 5.8 foi possível observar que o composto Pal-Neo apresentou um valor de CBM de 1,25% e 2,5% para as bactérias *Salmonella choleraesuis* e *Escherichia coli*, respectivamente, para todos os tempos de contato. Enquanto que para a bactéria *Listeria monocytogenes* a CBM foi de 5% para os tempos de 10 minutos e 30 minutos, aumentando para 10%, após o tempo de 60 minutos e 120 minutos. E, por fim, a *S. aureus* que apresenta valores de CBM iguais ou próximos de 10%.

Pode-se observar que as bactérias Gram-positivas necessitam de uma maior concentração para serem inibidas. A neomicina é um antibiótico aminoglicosídeo de amplo espectro de ação, bastante efetivo contra bactérias Gram-positivas, Gram-negativas e microbactérias (VASTRAD e NEELAGUND, 2011). Uma característica importante deste antibiótico é a sua solubilidade e polaridade, sendo ideal para que este esteja dissolvido no meio de cultura, já que este teste baseia-se na interação entre o antibiótico e o micro-organismo (LOURENÇO e PINTO, 2011) e cada micro-organismo produzirá uma resposta diferente para cada antibiótico.

5.10 Modelagem Molecular

Um modelo com composição química semelhante ao experimental da paligorskita foi utilizado como ponto de partida, apresentado na Figura 5.17. Assim, nossa célula unitária possui fórmula química $\text{Mg}_5(\text{Si}, \text{Al})_8\text{O}_{20}(\text{OH})_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, com parâmetros de rede $a=13,179$; $b=17,852$; e $c=5,2316$ e ângulos de $\alpha=90^\circ$, $\beta=107,7^\circ$ e $\gamma=90^\circ$.

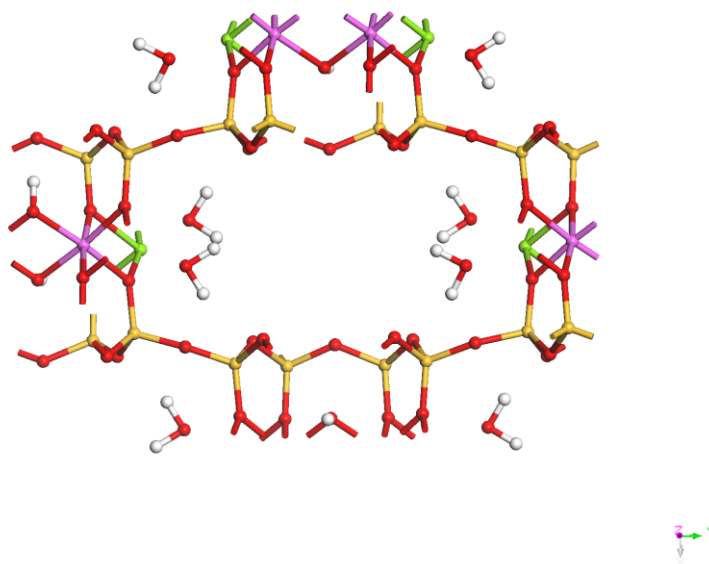
Figura 5.17: Modelagem molecular da paligorskita com as moléculas de águas de hidratação, os átomos de magnésio, silício, alumínio, oxigênio, hidrogênio são descritos em verde, amarelo, rosa, vermelho e branco, respectivamente.



Fonte: Próprio autor.

As moléculas de águas livres foram retiradas, como pode ser observado na Figura 5.18, para evitar interações adicionais que podem esconder as interações reais da superfície adsorvente. A energia calculada para esta geometria foi de -2029,943 kcal/mol.

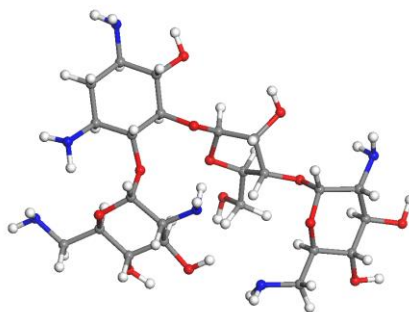
Figura 5.18: Modelagem molecular da paligorskita com apenas 8 moléculas de água estruturais, os átomos de magnésio, silício, alumínio, oxigênio, hidrogênio são descritos em verde, amarelo, rosa, vermelho e branco, respectivamente.



Fonte: Próprio autor.

Através da Figura 5.19, foi possível observar a estrutura molecular do fármaco neomicina C, com estrutura $C_{23}H_{46}N_6O_{13}$. Neste caso, foi utilizada neomicina C, pois não foi possível localizar nenhum arquivo *CIF da neomicina disponível para utilizar no Materials Studio. A energia da neomicina (E_{neo}) também foi calculada, obtendo um valor de 101,239 kcal/mol.

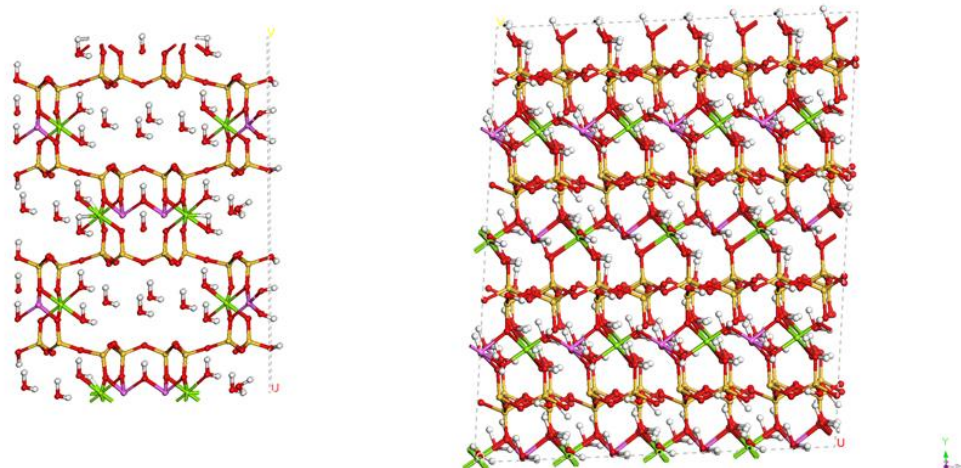
Figura 5.19: Modelagem molecular da Neomicina C, os átomos de carbono, hidrogênio, nitrogênio, oxigênio estão representados pelas cores cinza, branco, azul e vermelho, respectivamente.



Fonte: Próprio autor.

Levando em conta o tamanho da molécula de Neomicina, se faz necessário aumentar o tamanho do modelo do mineral, para evitar interações falsas entre os adsorbatos vizinhos, para isso, uma supercélula 1x1x3 foi gerada. A Figura 5.20 ilustra a supercélula construída para que seja possível estudar os canais da estrutura da paligorskita através da modelagem molecular, assim como, a superfície desta argila. Sendo possível, explorar a interação da neomicina não só nos canais que, como pode ser observado, apresentam tamanhos diferentes, mas, também, na superfície. Foi realizado o cálculo da energia (E_{pal}) para esta geometria e o valor obtido foi de 607,776 kcal/mol.

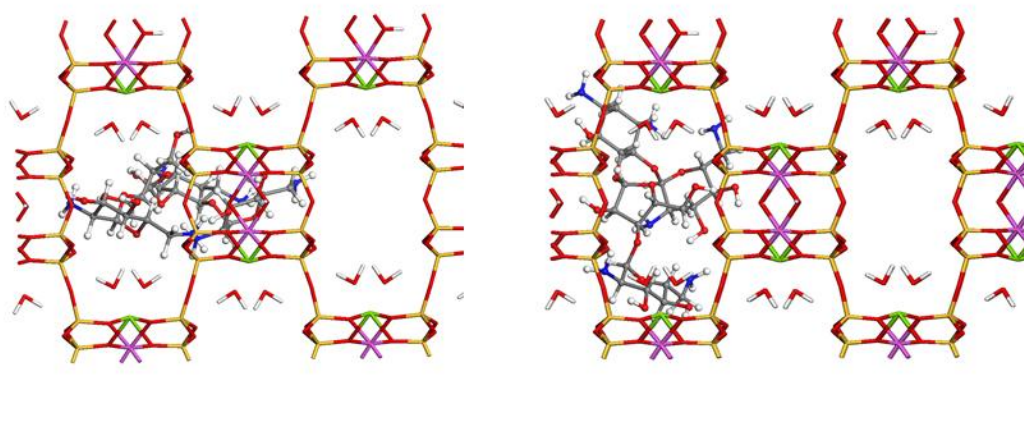
Figura 5.20: Supercélula da paligorskita com diferentes perspectivas.



Fonte: Próprio autor.

Como é possível aferir na Figura 5.21, a molécula de neomicina apresenta tamanho consideravelmente grande, de forma que não foi possível calcular a energia de adsorção desta molécula com a argila. Então, através da modelagem molecular foi possível visualizar que a molécula de neomicina não consegue incorporar nos canais do argilomineral.

Figura 5.21: Adsorção da molécula de neomicina C nos canais da paligorskita.



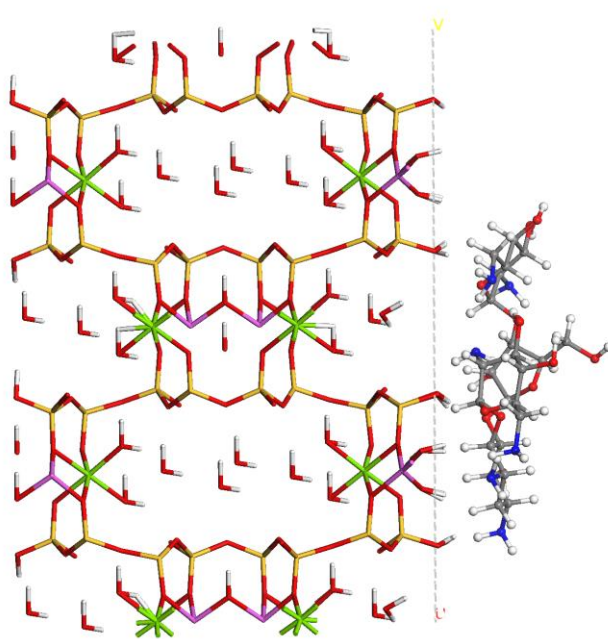
Fonte: Próprio autor.

Diferentemente do que ocorre nos canais, foi possível verificar na Figura 5.22 a interação entre os átomos da superfície externa (001) da paligorskita com a neomicina, onde a energia de adsorção, que pode ser calculada através da fórmula:

$$E_{ads} = E_{Pal+Neo} - (E_{Pal} + E_{Neo}) \quad (5.1)$$

Ou seja, a energia é igual à energia da paligorskita com a neomicina na superfície ($E_{pal+Neo}$), que foi de 671,953 kcal/mol, com as energias da molécula de paligorskita (E_{pal}) com a da neomicina (E_{neo}). O valor obtido da energia de adsorção foi de -37,062 kcal/mol, sendo a energia coesiva negativa, mostrando que a adsorção é exotérmica e termodinamicamente favorável, indicando que a neomicina é susceptível a interagir com a superfície da paligorskita.

Figura 5.22: Interação da molécula de neomicina com a superfície externa (001) da paligorskita.



Fonte: Próprio autor.

Portanto, através dos resultados obtidos pela modelagem molecular, os 3% de neomicina incorporada na paligorskita, visto na análise elementar (CHN-S), está na superfície da paligorskita, devido ao tamanho da molécula da neomicina não foi possível a sua incorporação nos canais do argilomineral. O fato da neomicina ter incorporado na superfície e em pouca quantidade, evidencia a liberação do fármaco em um curto período de tempo, observado na atividade antimicrobiana.

Capítulo 6

Conclusões

6 CONCLUSÕES

O método de *tape casting* mostrou-se eficiente na preparação das fitas cerâmicas de Pal (F) e Pal-Neo (F). A composição utilizada para a produção da suspensão cerâmica foi ideal para que se obtivesse um comportamento pseudoplástico, característico das suspensões utilizadas na técnica de *tape casting*.

Os padrões de difração de raios X revelaram a formação da fase paligorskita - $\text{H}_9\text{AlMgO}_{15}\text{Si}_4$ – de estrutura ortorrômbica, segundo ficha padrão (JCPDS 98-007-7211) e quartzo – SiO_2 – de estrutura hexagonal, de acordo com a ficha padrão (JCPDS 98-003-5110).

O perfil térmico do híbrido Pal-Neo apresentou um comportamento semelhante à amostra Pal, sendo possível observar que o processo de perda total de massa ocorreu basicamente em quatro eventos, na faixa de temperatura de 25°C e 700°C, sendo estes referentes à desidratação de águas livres, desidratação de águas zeolíticas, desidratação de moléculas de água que se coordenam em cátions centrais do octaedro e a remoção dos grupos hidroxilas. Enquanto que para as fitas cerâmicas Pal e Pal-Neo a perda de massa ocorreu em três eventos, sendo atribuída a desidratação de águas existentes no composto, decomposição do material orgânico e degradação dos constituintes orgânicos.

Na calorimetria exploratória diferencial, quando comparado o híbrido Pal-Neo e a neomicina, foi possível observar os três picos exotérmicos que estão presentes na curva de neomicina, podendo-se assegurar que houve a incorporação do fármaco na paligorskita.

Pela técnica de espectroscopia de absorção na região do Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) foi possível observar as bandas características da paligorskita, as bandas em aproximadamente 3618 cm^{-1} e 3589 cm^{-1} , estas podem ser atribuídas às vibrações de estiramento dos grupos $\text{Mg}_3\text{-OH}$, Al-OH-Fe^{3+} e Al-OH-Al . Também é possível verificar uma banda de absorção em aproximadamente 3551 cm^{-1} , no qual pode estar associada ao estiramento vibracional da água.

Na análise elementar (CHN-S) foi possível aferir a quantidade de neomicina adsorvida pela paligorskita, este valor foi estimado de acordo com a porcentagem de nitrogênio presente na amostra, com isso, obteve-se que foi incorporado na paligorskita apenas 3% de neomicina.

As micrografias de MEV dos pós precursores e das fitas cerâmicas revelaram que a estrutura apresenta cristais em forma de agulha, confirmando a estrutura fibrosa da paligorskita.

As fitas cerâmicas produzidas neste trabalho mostraram ser eficientes quanto à sua atividade antimicrobiana, ou seja, a neomicina presente no híbrido Pal-Neo (F) apresentou efeito inibitório sobre o crescimento das bactérias. Sendo promissores na utilização de administração de fármaco por via tópica, pois mostraram um retardo na liberação do antibiótico.

A modelagem molecular demonstrou que a adsorção do fármaco ao argilomineral, através da superfície, foi um processo energeticamente favorável. Portanto, híbrido Pal-Neo (F) produzido pelo método de *tape casting* mostrou-se uma boa alternativa para o desenvolvimento de um novo sistema de liberação de fármacos, podendo ser um candidato promissor para aplicações farmacêuticas, como em cicatrizações de feridas.

Referências

REFERÊNCIAS

AGUZZI, C.; CEREZO, P.; VISERAS, C.; CARAMELLA, C. Use of clays as drug delivery systems: Possibilities and limitations. *Applied Clay Science*, v. 36, n. 1–3, p. 22–36, 2007.

ALCÂNTARA, A. C. S.; DARDER, M.; ARANDA, P.; RUIZ-HITZKY, E. Polysaccharide-fibrous clay bionanocomposites. *Applied Clay Science*, v. 96, p. 2–8, 2014.

ARAÚJO, M.R. Estudo de fitas nanocerâmicas de zircônia obtidas por tape casting. Tese de doutorado - UFRN, 2016.

BALSALOBRE, L.C. Resistência a tetraciclina em isolados clínicos e ambientais de *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* e *Aeromonas* spp.: identificação e mapeamento do ambiente genético de genes tet. Tese de doutorado - USP, 2014.

BERTHET, M.; GAUTHIER, Y.; LACROIX, C.; VERRIER, B.; MONGE, C. Nanoparticle-based dressing: the future of wound treatment?. *Trends in biotechnology*, v. 35, n. 8, p. 770-784, 2017.

BORIN, A. C. F. A. E. M. D. F. Influência de excipientes farmacêuticos em reações adversas a medicamentos. *Brasília Med* 2012; 49 (4):267-278, v. 49(4):267-278, 2012.

BORREGO-SÁNCHEZ, A.; CARAZO, E.; AGUZZI, C.; VISERAS, C.; SAINZ-DÍAZ, I. Biopharmaceutical improvement of praziquantel by interaction with montmorillonite and sepiolite. *Applied Clay Science*, v. 160, p. 173-179, 2018.

BORREGO-SÁNCHEZ, A.; VISERAS, C.; AGUZZI, C.; SAINZ-DÍAZ, I. Molecular and crystal structure of praziquantel. Spectroscopic properties and crystal polymorphism. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, v. 92, p. 266-275, 2016.

BRIGATTI, M. F.; GALAN, E.; THENG, B. K. G. Chapter 2 Structures and Mineralogy of Clay Minerals. *Developments in Clay Science*, v. 1, n. C, p. 19–86, 2006.

CARAZO, E.; BORREGO-SÁNCHEZ, A.; GARCÍA-VILLÉN, F.; SÁNCHEZ-ESPEJO, R. VISERAS, C. Adsorption and characterization of palygorskite-isoniazid nanohybrids. *Applied Clay Science*, v. 160, p. 180-185, 2018.

CARBINATTO, F.M. Matrizes poliméricas reticuladas de alta amilose e pectina para liberação controlada de fármacos. Dissertação de mestrado - Universidade Estadual Paulista, 2010.

CARTER, C. B.; NORTON, M. G. Ceramic materials: science and engineering. Springer Science & Business Media, 2007.

CARVALHO, A. C. Interação de glicina com grafeno: uma abordagem de modelagem molecular. Dissertação de mestrado – UFMA, 2010.

CHANG, J.Y., GODOVSKY, D.Y., HAN, M.J., HASSAN, C.M., KIM, J., LEE, B., YOO, T. Biopolymers PVA Hydrogels Anionic Polymerisation. Vol.153, Springer Science & Business Media, 2000.

COELHO, A.C.V.; SANTOS, P.S.; SANTOS, H.S. Argilas especiais: O que são, caracterização e propriedades. *Quimica Nova*, v. 30, n. 1, p. 146–152, 2007.

COELHO, P.M.B.S. Desenvolvimento de formulações de liberação modificada de ranitidina. Tese de doutorado - Faculdade de farmácia da Universidade do Porto, 2007.

COGO, J.M. Caracterização e funcionalização de argila esmectita de alteração basáltica e utilização na remoção de corante com processo de adsorção: Estudo da cinética e equilíbrio do processo. Dissertação de mestrado – Universidade Federal de Mato Grosso, 2011.

COLTRO, M.C.R.C. Síntese e caracterização de polímeros biodegradáveis para liberação controlada de dexametasona. Tese de doutorado - UFG, 2014.

CORREA, M. A.; ARAÚJO, M. R.; ACCHAR, W.; SOUZA, A. L. R.; MELO, A. S.; BOHN, F. ZrO₂ tape as flexible substrate to artificially nanostructured materials. *Materials Letters*, v. 196, p. 69-73, 2017.

COSTA, A.C.S. Caracterização de atapulgita visando aplicação para reforço de materiais poliméricos. Dissertação de mestrado - UFRN, 2011.

DIAS, T.; SOUZA, D. P. F. DE. Placas cerâmicas obtidas por colagem de fita. *Matéria* (Rio de Janeiro), v. 13, p. 448–461, 2008.

DOMINGOS, L.G. O efeito do tratamento da atapulgita no desenvolvimento de compósito com o polietileno reciclado. Dissertação de mestrado – Universidade Federal do Rio Grande do Norte. 2012.

FRANCISCO, F.L. Doseamento microbiológico de neomicina e bacitracina - Desenvolvimento e validação de método rápido em microplacas. Dissertação de mestrado - USP, 2015.

GALAN, E. Properties and Applications of Palygorskite-Sepiolite Clays. *Clay Minerals*, v. 31, n. 4, p. 443–453, 1996.

GARCÍA-RIVAS, J.; SÁNCHEZ DEL RÍO, M.; GARCÍA-ROMERO, E.; SUÁREZ, M. An insight in the structure of a palygorskite from Palygorskaja: Some questions on the standard model. *Applied Clay Science*, v. 148, n. August, p. 39–47, 2017.

GARDINI, D.; DELUCA, M.; NAGLIATI, M.; GALASSI, C. Flow properties of PLZTN aqueous suspensions for tape casting. *Ceramics International*, v. 36, n. 5, p. 1687–1696, 2010.

GOMES, C. F. Argilas – O que são e para que servem. Fundação Calouste Gulbenkian, Lisboa, 1986.

GUIMARÃES, D. O.; DA SILVA MOMESSO, L.; PUPO, M. T. Antibióticos: Importância terapêutica e perspectivas para a descoberta e desenvolvimento de novos agentes. *Química Nova*, v. 33, n. 3, p. 667–679, 2010.

GUTIERREZ, C. A.; MORENO, R. Influence of slip preparation and casting conditions on aqueous tape casting of Al_2O_3 . *Materials research bulletin*, v. 36, n. 11, p. 2059-2072, 2001.

HAN, H.; CHENG, C.; HU, S.; Li, X.; WANG, W.; XIAO, C.; XU, Z.; SHAO, D. Facile synthesis of gelatin modified attapulgite for the uptake of uranium from aqueous solution. *Journal of Molecular Liquids*, v. 234, p. 172–178, 2017.

HANKO, V. P.; ROHRER, J. S. Suitability of a liquid chromatography assay of neomycin sulfate to replace the microbiological assay for neomycin in USP Monographs. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*, v. 51, n. 1, p. 96–102, 2010.

HOTZA, D. Artigo revisão: colagem de folhas cerâmicas. *Cerâmica*, v. 43, n. 283–284, p. 159–166, 1997.

HOTZA, D.; GREIL, P. Aqueous Tape Casting of Ceramic Powders. *Materials Science and Engineering a-Structural Materials Properties Microstructure and Processing*, v. 202, n. 1–2, p. 206–217, 1995.

JABBARI, M.; BULATOVA, R.; TOK, A. I. Y.; BAHL, C. R. H.; MITSOULIS, E.; HATTEL, J. H. Ceramic tape casting: A review of current methods and trends with emphasis on rheological behaviour and flow analysis. *Materials Science and Engineering B: Solid-State Materials for Advanced Technology*, v. 212, p. 39–61, 2016.

KATHE, K.; KATHPALIA, H. Film forming systems for topical and transdermal drug delivery. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2017.

KUSHAL, M.; MONALI, M.; DURGAVATI M.; MITTAL P.; UMESH S.; PRAGNA S. Oral Controlled Release Drug Delivery System: an Overview. *International Research Journal of Pharmacy*, v. 4, n. 3, p. 70–76, 2013.

LEITE, J.A.F. Antibioterapia em medicina dentária. Dissertação (mestrado) - Universidade Católica Portuguesa, 2014.

LI, Z.; FITZGERALD, N. M.; JIANG, W. T.; LV, G. Palygorskite for the uptake and removal of pharmaceuticals for wastewater treatment. *Process Safety and Environmental Protection*, v. 101, p. 80–87, 2016.

LIU, H.; CHEN, T.; CHANG, D.; CHEN, D.; QING, C.; XIE, J. The difference of thermal stability between Fe-substituted palygorskite and Al-rich palygorskite. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, v. 111, n. 1, p. 409–415, 2012.

LOURENÇO, F. R.; PINTO, T. J. A. Antibiotic microbial assay using kinetic-reading microplate system. *Brazilian Journal of Pharmacy*, v. 30, p. 554-557, 2011.

LOYD, V.; JUNIOR, A.; POPOVICH, N.G.; ANSEL, H.C. *Formas farmacêuticas e sistemas de liberação de fármaco*. 8 ed. Porto Alegre: Artmed, 2007.

LUO, J.; EITEL, R. Aqueous tape casting of Al_2O_3 for multilayer co-fired ceramic based microfluidic chips with translucent windows. *Ceramics International*, v. 44, n. 3, p. 3488-3491, 2018.

LYRA, M. A. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; BRASILEIRO, M. T.; ROCA, M. F.; BARRAZA, J. A.; VIANA, O. S.; ROLIM-NETO, P. J. Sistemas matriciais hidrofílicos e mucoadesivos para liberação controlada de fármacos. *Latin American Journal of Pharmacy*. v. 26, n.5, p.784-793, 2007.

MA, G.; YANG, Q.; RAN, F.; DONG, Z.; LEI, Z. High performance and low cost composite superabsorbent based on polyaspartic acid and palygorskite clay. *Applied Clay Science*, v. 118, p. 21–28, 2015.

MACKENZIE, R. C. The classification and nomenclature of clay minerals. *Clays Min. Bull.* V. 4, p. 52, 1959.

MALAQUIAS, J.V. Modelagem da liberação de fármacos transdérmicos via equação de difusão. *Dissertação de mestrado - UNB*, 2014.

MANOHARAN, G.; KARUPPIAH, M.; SAHU, N. K.; HEMBRAM, K. High performance multi-layer varistor (MLV) from doped ZnO nanopowders by water based tape casting: Rheology, sintering, microstructure and properties. *Ceramics International*, v. 44, n. 7, p. 7837-7843, 2018.

MARANGON, A.A.S. *Compósitos de PVA/caulinita e PVA/caulinita funcionalizada*. *Dissertação de mestrado - UFPR*, 2008.

MENG, X.; WANG, W.; XIE, Z.; LI, P.; LI, Y.; GUO, Z.; LU, Y.; YANG, J.; GUAN, K.; LU, Z.; TAN, H.; CHEN, Y. Neomycin biosynthesis is regulated positively by AfsA-g and NeoR in *Streptomyces fradiae* CGMCC 4.7387. *Science China Life Sciences*, v. 60, n. 9, p. 980–991, 2017.

METCALFE, A. D.; FERGUSON, M. W. J. Tissue engineering of replacement skin: the crossroads of biomaterials, wound healing, embryonic development, stem cells and regeneration. *Journal of the Royal Society Interface*, v. 4, n. 14, p. 413-437, 2007.

MINATTO, F. D.; MILAK, P.; DE NONI, A.; HOTZA, D.; MONTEDO, O. R. K. Multilayered ceramic composites - a review. *Advances in Applied Ceramics*, v. 114, n. 3, p. 127–138, 2015.

MISTLER, R. E.; TWINAME, E. R. Tape casting: theory and practice. American ceramic society, 2000.

MORAES, J. O.; RESZKA, A.; LAURINDO, E. J. B. Espalhamento e secagem de filme de amido-glicerol-fibra preparado por “tape-casting”. *Pesquisa Agropecuaria Brasileira*, v. 49, n. 2, p. 136–143, 2014.

MORENO, V.; BERNARDINO, R. M.; HOTZA, D. Mechanical Behavior of Yttria-Stabilized Zirconia Aqueous Cast Tapes and Laminates. *Journal of Ceramics*, v. 2014, p. 1–5, 2014.

MORTARA, L. Analysis and development of an aqueous tape casting ceramic process. Tese (PhD) - Cranfield university, 2005.

MU, B.; WANG, A. Adsorption of dyes onto palygorskite and its composites: A review. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 4, n. 1, p. 1274–1294, 2016.

NETO, B.P.C. Micropartículas de quitosana estruturadas com Aerosil®: Estabilidade, adsorção, encapsulação e liberação de substâncias ativas. Tese de doutorado - UFRN, 2014.

NINAN, N.; MUTHIAH, M.; PARK, I. K.; WONG, T. W.; THOMAS, S.; GROHENS, Y. Natural polymer/inorganic material based hybrid scaffolds for skin wound healing. *Polymer Reviews*, v. 55, n. 3, p. 453-490, 2015.

NISHIHORA, R. K.; RACHADEL, P. L.; QUADRI, M. G. N.; HOTZA, D. Manufacturing Porous Ceramic Materials by Tape Casting– A review. *Journal of the European Ceramic Society*, v.38, p. 988-1001, 2018.

OLIVEIRA, A.M.B.M. Paligorsquita como adsorvente para íons de metais de transição - Estudos cinéticos e do equilíbrio. Tese de doutorado - UFPB/CCEN, 2011.

OLIVEIRA, R. N.; ACCHAR, W.; SOARES, G. D. A.; BARRETO, L. S. The increase of surface area of a Brazilian palygorskite clay activated with sulfuric acid solutions using a factorial design. *Materials Research*, v. 16, n. 4, p. 924–928, 2013.

OLIVEIRA, R.N.; PARANHOS, C.M.; BARRETO, L.S.; SOARES, G.A. Hidrogéis de PVA/Atapulgita. *CBECiMat*, n. 7, p. 2490–2497, 2010.

PARDO, A. F. R., Processamento viscoplástico e conformação cerâmica por rolos a frio a partir de suspensões concentradas de alumina. 153p. Tese de doutorado - Universidade Federal de São Carlos, 2005.

PEDROSO, M.G.V. Estudo comparativo de colágeno hidrolisado e comercial com adição de PVA. Dissertação de mestrado - USP, 2009.

PENG, X. T.; FENG, Y. Q.; HU, X. Z.; HU, D. J. Preparation and characterization of the neomycin-bonded silica stationary phase for hydrophilic-interaction chromatography. *Chromatographia*, v. 76, n. 9–10, p. 459–465, 2013.

PERES, A. P. S.; COSTA, A. C. S.; BOHN, F.; CORREA, M. A.; ACCHAR, W.; PASKOCIMAS, C. A. $\text{Bi}_4\text{Ti}_3\text{O}_{12}$ multilayered ceramic tapes produced by aqueous tape casting and laminating process: Structural and dielectric properties. *Ceramics International*, v. 44, p. 16062-16065, I. 13, 2018.

PRAÇA, F.S.G. Liberação e permeação in vitro de produtos transdérmicos: um estudo metodológico de aparatos e de condições experimentais. Tese de doutorado - USP, 2010.

PRIYA, S. Geetha; JUNGVID, Hans; KUMAR, Ashok. Skin tissue engineering for tissue repair and regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, v. 14, n. 1, p. 105-118, 2008.

RAFEIRO, D. F. B. Novas estratégias de promoção da permeação transdérmica. Dissertação de mestrado - Universidade Lusófona, 2013.

RAFIEE, Z.; KESHAVARZ, V. Synthesis and characterization of polyurethane/microcrystalline cellulose bionanocomposites. *Progress in Organic Coatings*, v. 86, p. 190–193, 2015.

REBITSKI, E.P. Materiais bionanocompósitos a base de argilominerais e hidróxidos duplos lamelares como sistemas de liberação de fármacos. Dissertação de mestrado - UFRN, 2015.

RODRIGUES, L. A. S.; FIGUEIRAS, A.; VEIGA, F.; FREITAS, R. M.; NUNES, L. C. C.; FILHO, E. C. S.; LEITE, C. M. S. The systems containing clays and clay minerals from modified drug release: A review. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 103, p. 642–651, 2013.

RUIZ-HITZKY, E.; DARDER, M.; FERNANDES, F. M.; WICKLEIN, B.; ALCÂNTARA, A. C. S; ARANDA, P. Fibrous clays based bionanocomposites. *Progress in Polymer Science*, v. 38, n. 10–11, p. 1392–1414, 2013.

SAFAEI, M.; TARAN, M. Optimal conditions for producing bactericidal sodium hyaluronate-TiO₂ bionanocomposite and its characterization. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 104, p. 449–456, 2017.

SANDRI, G.; BONFERONI, M. C.; ROSSI, S.; FERRARI, F.; AGUZZI, C.; VISERAS, C.; CARAMELLA, C. Clay minerals for tissue regeneration, repair, and engineering. In: *Wound Healing Biomaterials*, p. 385-402, 2016.

SANTOS, P.S Ciência e Tecnologia de Argilas, 2a Ed., São Paulo: Ed. Edgard Blucher, 1989.

SILVA, E.A. Desenvolvimento e caracterização de blendas de polímeros biodegradáveis e polipirrol. Tese de doutorado - USP, 2009.

SILVA, I.D.V. Estudo de blendas poliméricas constituídas por goma xantana e poli (álcool vinílico) reticuladas com ácido cítrico para aplicação em sistemas de liberação controlada de fármacos. Dissertação de mestrado - UFPB/CCEN, 2016.

SILVA, J.S.; VILARINHO, A.C.S.G.; BARUD,H.S.;SILVA FILHO, E.C.; NUNES, L. C. C. Utilização de argilas fibrosas e tubulares para a liberação modificada de fármacos: uma revisão. Revista Matéria, v.21, n.1, pp. 204 – 212, 2016.

SILVA, M. L. DE G. DA; FORTES, A. C.; TOMÉ, A. DA R.; FILHO, E. C. S.; FREITAS, R. M.; SOARES-SOBRINHO, J. L.; LEITE, C. M. S.; SOARES, M. F. L. R. The effect of natural and organophilic palygorskite on skin wound healing in rats. Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences, v. 49, n. 4, p. 729–736, 2013.

SILVA, M. L. G; FORTES, A. C.; OLIVEIRA, M. E. R.; FREITAS, R. M.; FILHO, E. C. S.; SOARES, M. F. L. R; SOARES-SOBRINHO, J. L.; LEITE, C. M. S. Palygorskite organophilic for dermopharmaceutical application. Journal of Thermal Analysis and Calorimetry, v. 115, n. 3, p. 2287-2294, 2014.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F.X.; KIEMLE, D.J. Identificação espectrométrica de compostos orgânicos, 7^o edição, Editora LTC, 2006.

STEAD, D. A.; RICHARDS, R. M. E. Sensitive high-performance liquid chromatographic assay for aminoglycosides in biological matrices enables the direct estimation of bacterial drug uptake. Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications, v. 693, n. 2, p. 415-421, 1997.

STYPULKOWSKA, K.; BLAZEWICZ, A.; FIJALEK, Z.; WAROWNA-GZESKIEWICZ, M.; SREBRZYNSKA, K. Determination of neomycin and related substances in pharmaceutical preparations by reversed-phase high performance liquid chromatography with mass spectrometry and charged aerosol detection. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v. 76, p. 207-214, 2013.

SUÁREZ, M.; GARCÍA-ROMERO, E.; DEL RÍO, M. S.; MARTINETTO, P.; DOORYHÉE, E. The effect of the octahedral cations on the dimensions of the palygorskite cell. *Clay Minerals*, v. 42, n. 3, p. 287–297, 2007.

SWATHI, V; VIDYAVATHI, M.; PRASAD, T. N. V. K. V; KUMAR, R. V. S. Design, characterization and evaluation of metallic nanobiocomposites of neomycin. *Journal of Applied Solution Chemistry and Modeling*, v. 2, n. 2, p. 136-144, 2013.

TANIMOTO, Y.; TESHIMA, M.; NISHIYAMA, N.; NISHIYAMA, N.; YAMAGUCHI, M.; HIRAYAMA, S.; SHIBATA, Y.; MIYAZAKI, T. Tape-cast and sintered β -tricalcium phosphate laminates for biomedical applications: Effect of milled Al_2O_3 fiber additives on microstructural and mechanical properties. *Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials*, v. 100, n. 8, p. 2261–2268, 2012.

TARÌ, G.; OLHERO, S. M.; FERREIRA, J. M. F. Influence of temperature on the colloidal processing of electrostatically stabilised alumina suspensions. *Journal of materials processing technology*, v. 137, n. 1-3, p. 102-109, 2003.

TAVARES, W. Antibióticos e Quimioterápicos Para o Clínico. 1ª ed. Rio de Janeiro, 2001.

TEIXEIRA, E.M. Utilização de amido de mandioca na preparação de novos materiais termoplásticos. Tese de doutorado - USP, 2007.

VASTRAD, B. M.; NEEGULAND, S. E. Optimization and production of neomycin from different agro industrial wastes in solid state fermentation. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drugs Research*, v. 3, n. p. 104-111, 2011.

VILARDO, N.V. Preparação de eletrólito por colagem de fita para aplicação em pilha a combustível de óxido sólido. Tese de doutorado - UFRJ, 2015.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações farmacêuticas de polímeros. *Polímeros*, v. 20, n. 1, p. 51–64, 2010.

VISERAS, C.; AGUZZI, C.; CEREZO, P.; LOPEZ-GALINDO, A. Uses of clay minerals in semisolid health care and therapeutic products. *Applied Clay Science*, v. 36, n. 1-3, p. 37-50, 2007.

VISERAS, C.; CERREZO, P.; SANCHEZ, R.; SALCEDO, I.; AGUZZI, C. Current challenges in clay minerals for drug delivery. *Applied Clay Science*, v. 48, n. 3, p. 291–295, 2010.

VISERAS, C.; LOPEZ-GALINDO, A. Pharmaceutical applications of some spanish clays (sepiolite, palygorskite, bentonite): some preformulation studies. *Applied Clay Science*, v. 14, n. 1–3, p. 69–82, 1999.

WANG, L.; TANG, G.; XU, Z. K. Preparation and electrical properties of multilayer ZnO varistors with water-based tape casting. *Ceramics International*, v.35, n.1, p. 487-492, 2009.

WANG, W.; WANG, A. Recent progress in dispersion of palygorskite crystal bundles for nanocomposites. *Applied Clay Science*, v. 119, p. 18–30, 2016.

WANG, X.; CHANG, J.; WU, C. Bioactive inorganic/organic nanocomposites for wound healing. *Applied Materials Today*, v. 11, p. 308-319, 2018.

XAVIER, K. C. M.; SANTOS, M. S. F.; SANTOS, M. R. C.; OLIVEIRA, M. E. R.; CARVALHO, M. W. N. C.; OSAJIMA, J. A.; FILHO, E. C. S. Effects of acid treatment on the clay palygorskite: XRD, surface area, morphological and chemical composition. *Materials Research*, v. 17, p. 3-08, 2014.

XAVIER, K. C. M.; SANTOS, M. S. F.; OSAJIMA, J. A.; LUZ, A. B.; FONSECA, M. F.; FILHO, E. C. S. Thermally activated palygorskites as agents to clarify soybean oil. *Applied Clay Science*, v. 119, p. 338-347, 2016.

YAN, W.; LIU, D.; TAN, D.; YUAN, P.; CHEN, M. FTIR spectroscopy study of the structure changes of palygorskite under heating. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, v. 97, p. 1052–1057, 2012.

YANG, J. H.; LEE, J. H.; RYU, H. J.; ELZATAHRY, A. A.; ALOTHMAN, Z. A.; CHOY, J. H. Drug–clay nanohybrids as sustained delivery systems. *Applied Clay Science*, v. 130, p. 20–32, 2016.

ZAFAR, R.; ZIA, K. M.; TABASUM, S.; JABEEN, F.; NOREEN, A.; ZUBER, M. Polysaccharide based bionanocomposites, properties and applications: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, v. 92, p. 1012–1024, 2016.

ZHOU, Y.; LEI, L.; YANG, B.; LI, J.; REN, J. Preparation of PLA-based nanocomposites modified by nano-attapulgit with good toughness-strength balance. *Polymer Testing*, v. 60, p. 78–83, 2017.

ZHUANG, G.; ZHANG, Z.; GAO, J.; ZHANG, X.; LIAO, L. Influences of surfactants on the structures and properties of organo-palygorskite in oil-based drilling fluids. *Microporous and Mesoporous Materials*, v. 244, p. 37–46, 2017.